



# Influence de la conception implantaire sur l'adaptation tissulaire marginale précoce : une étude histologique chez le Beagle

Caroline Bolle

## ► To cite this version:

Caroline Bolle. Influence de la conception implantaire sur l'adaptation tissulaire marginale précoce : une étude histologique chez le Beagle. Chirurgie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français. NNT : 2015LYO10117 . tel-01370106

**HAL Id: tel-01370106**

**<https://theses.hal.science/tel-01370106>**

Submitted on 22 Sep 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON I**  
**ECOLE DOCTORALE INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES SANTE**

MANUSCRIPT POUR LE DIPLOME NATIONAL de DOCTORAT  
RECHERCHE en PARODONTOLOGIE et IMPLANTOLOGIE

par  
Caroline BOLLE

---

**INFLUENCE DE LA CONCEPTION IMPLANTAIRE SUR L'ADAPTATION TISSULAIRE  
MARGINALE PRECOCE : UNE ETUDE HISTOLOGIQUE CHEZ LE BEAGLE**

---

***Thèse dirigée par le Pr Brigitte GROSGOGEAT***

Soutenue le 21 Septembre 2015

**JURY**

Monsieur le Docteur	BOIVIN Georges	Assesseur
Monsieur le Professeur	BOUCHARD Philippe	Rapporteur
Monsieur le Professeur	COLON Pierre	Assesseur
Monsieur le Professeur	DAVIDEAU Jean-Luc	Assesseur
Madame le Professeur	GROSGOGEAT Brigitte	Directrice de thèse
Madame le Docteur	GUSTIN-PAULTRE Marie-Paule	Assesseur
Madame le Professeur	JEANNE Sylvie	Rapporteur
Madame le Professeur	MONNET-CORTI Virginie	Rapporteur

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie  
Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

**M. François-Noël GILLY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles  
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en  
Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et  
Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme Caroline FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur Georges TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. Jean-Claude PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

## **LABORATOIRE DE RATTACHEMENT**

Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR CNRS 5615)  
Equipe Biomatériaux et Interfaces Biologiques  
Faculté d'Odontologie – Université Lyon 1  
11, Rue Guillaume Paradin 69372 Lyon Cedex 08  
Tél 33 (0)4 78 77 86 89 Fax 33 (0)4 78 77 87 12



## **RESUME**

Le maintien des tissus péri-implantaires sains à un niveau le plus coronaire possible conditionne le succès à long terme des réhabilitations implanto-portées. Dès lors, la mise en place d'une barrière muqueuse protectrice et la préservation de l'os marginal au cours des premières semaines de cicatrisation est indispensable.

Le design implantaire influence les remodelages tissulaires intervenant au niveau du col de l'implant lors des phases initiales de cicatrisation.

L'objet de ce travail est d'analyser histologiquement chez le Beagle l'influence de deux systèmes implantaires innovants sur les caractéristiques de la muqueuse et la position de l'os marginal après 3 et 12 semaines de cicatrisation. Les résultats de cette étude, mis en relation avec les données de la littérature indiquent que les implants « deux-parts » présentant une connectique cône morse pourraient favoriser la mise en place d'un espace biologique court et limiter la perte osseuse marginale péri-implantaire. Les implants « une-part » à col transmuqueux concave seraient quant à eux associés à des valeurs réduites d'espace biologique et autoriseraient une apposition osseuse sur l'épaule de l'implant.

Dans la première partie de ce mémoire, nous établissons une synthèse des données histologiques actuelles concernant les caractéristiques et les processus de cicatrisation des tissus péri-implantaires, et l'influence de la conception implantaire sur les remodelages tissulaires marginaux intervenant au cours de la cicatrisation. Nous avons rédigé deux publications internationales que nous présentons en deuxième partie. Une réflexion analytique autour de ce travail est présentée dans la troisième partie.

## **MOTS CLES**

Espace biologique, implant, design transmuqueux concave, remodelage osseux marginal, platform-switching, cône morse, histomorphométrie, chien Beagle

## **ABSTRACT**

Aesthetic and functional long-term success of implant-supported rehabilitations relies on the preservation of peri-implant tissue levels in the most coronal position. Therefore, the achievement of an efficient protective mucosal seal, and the preservation of the peri-implant marginal bone during the first weeks of healing are essential to prevent long term implant failures. The characteristics of an implant transmucosal design (connections, platforms, surface properties) are related to biological width dimensions, marginal peri-implant bone levels, and the amount of inflammation within the peri-implant soft tissues.

The aim of the research work presented in this manuscript was to investigate the effect of two innovative implant systems on peri-implant mucosa maturation, dimensions, collagen fiber organization, and marginal bone levels after 3 and 12 weeks of healing in the beagle dog. The results, compared with previous data, show that platform-switched two-piece implants exhibit reduced values of biological width and marginal bone loss, and that a concave transmucosal design in one-piece implants is associated with a short vertical value of biological width, and promote a mechanical interlocking of the implant body at the connective tissue and marginal bone levels.

In the first part of this report, an overview of the current knowledge concerning the characteristics and healing patterns of peri-implant tissues, and the influence of implant design on the early peri-implant tissue remodeling is established. We have written two international publications which are presented in the second part. An analytical reflection about this work is presented in the third part.

## **KEYWORDS**

Biological width, implant, narrow transmucosal design, marginal bone remodeling, platform-switching, morse cone, histomorphometry, beagle dog

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> : Evolution des concepts et des enjeux en implantologie orale.....	p.13
--	------

<b>1<sup>ère</sup> PARTIE : Caractéristiques des tissus péri-implantaires - Influence de la conception implantaire sur l'espace biologique et le remodelage osseux marginal péri-implantaire précoce - Revue de littérature : études histologiques</b> .....	p.15
--	------

<b>I / CARACTERISTIQUES HISTOLOGIQUES, CICATRISATION ET REMODELAGE DES TISSUS PERI-IMPLANTAIRES</b> .....	p.15
---	------

<b>I.1 La muqueuse péri-implantaire et l'espace biologique</b> .....	p.15
--	------

I.1.1 Description générale.....	p.16
---------------------------------	------

I.1.2 Nature de l'interface muqueuse / implant.....	p.17
---	------

I.1.3 Caractéristiques du tissu conjonctif.....	p.18
---	------

*Composition générale*

*Vascularisation*

*Organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif*

I.1.4 Processus et délai de cicatrisation de la muqueuse.....	p.21
---	------

I.1.5 Espace biologique.....	p.23
------------------------------	------

*Notion d'espace biologique*

*Terminologie*

*Variations dimensionnelles de la muqueuse péri-implantaire*

I.1.6 Facteurs influençant les caractéristiques de la muqueuse péri-implantaire et de l'espace biologique.....	p.25
--	------

*Influence du protocole chirurgical et du délai de mise en charge*

*Influence du matériau du pilier*

*Influence de l'état de surface du composant implantaire transmuqueux*

<b>I.2 Le remodelage osseux péri-implantaire</b> .....	p.28
--	------

I.2.1 La cratérisation péri-implantaire.....	p.28
--	------

I.2.2 Facteurs étiologiques du remodelage osseux marginal péri-implantaire.....	p.29
---	------

*Mise en place de l'espace biologique*

*Contamination bactérienne de la jonction implant-pilier*

*Agression mécanique à la jonction implant-pilier*

- *Agression mécanique transitoire liée aux manipulations prothétiques*

- *Micro-mouvements du pilier implantaire*

*Traumatisme chirurgical*

- *Elévation du lambeau*

- *Traumatisme de l'os marginal*

*Transmission des contraintes occlusales à l'os marginal*

## **II / INFLUENCE DE LA CONCEPTION IMPLANTAIRE SUR LE NIVEAU DE L'OS MARGINAL ET LES CARACTERISTIQUES DE LA MUQUEUSE AU STADE PRECOCE.....p.33**

### **II.1 Implants « une-part » versus implants « deux-parts ».....p.33**

II.1.1 Position du contact os-implant le plus coronaire.....p.35

II.1.2 Valeur de l'espace biologique.....p.36

### **II.2 Influence du type de connectique implantaire (implants deux-parts).....p.37**

II.2.1 Evolution de la configuration des connectiques implantaires.....p.37

II.2.2 Influence de la taille du micro-gap sur la résorption osseuse marginale.....p.38

II.2.3 Intérêt du cône morse pour limiter la perte osseuse marginale.....p.38

II.2.4 Influence de la connectique implantaire sur la valeur de l'espace biologique.....p.39

### **II.3 Influence du platform-switching (implants deux-parts).....p.40**

II.3.1 Influence du platform-switching sur la position du contact os-implant le plus coronaire.....p.41

II.3.2 Influence du platform-switching sur la valeur de l'espace biologique.....p.44

II.3.3 Influence du platform-switching sur l'organisation des fibres de collagène.....p.45

### **II.4 Influence de la géométrie du composant transmuqueux.....p.46**

II.4.1 Influence de la géométrie du col des implants une-part.....p.46

II.4.2 Influence de la géométrie du pilier des implants deux-parts.....p.48

## **SYNTHESE.....p.50**

## **2<sup>ème</sup> PARTIE : Travail expérimental - Influence du cône morse et du design transmuqueux concave sur l'adaptation tissulaire marginale précoce : étude histologique chez le Beagle.....p.51**

### **I / RATIONNEL de l'ETUDE.....p.51**

I.1 Intérêt du col transmuqueux concave.....p.53

I.2 Intérêt de la connectique interne cône morse et du platform-switching.....p.54

### **II / OBJECTIF DU TRAVAIL EXPERIMENTAL.....p.54**

### **III / ARTICLES ACCEPTEES DANS DES REVUES INTERNATIONALES.....p.55**

- Soft tissue and marginal bone adaptation on platform switched implants with a morse cone connection: a histomorphometric study in dogs (*In Press*).....p.56
- Early peri-implant tissue healing on one-piece implants with a concave transmucosal design: a histomorphometric study in dogs (*In Press*).....p.72

<b>3<sup>ème</sup> PARTIE : Réflexion analytique – Discussion</b>	p.93
<b>I / INTERET DE L'EXPERIMENTATION ANIMALE EN IMPLANTOLOGIE</b>	p.93
<b>I.1 Apport des données pré-cliniques en implantologie</b>	p.93
<b>I.2 Considérations éthiques</b>	p.94
I.2.1 La règle des 3R : réduire, raffiner, remplacer (Richmond 2000)	p.94
I.2.2 Autorisation à l'expérimentation animale	p.95
I.2.3 Guidelines ARRIVE (Kilkenny <i>et al.</i> 2010)	p.96
I.2.4 Notion d'alternative : recherche de nouveaux modèles	p.98
<b>II / DISCUSSION DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	p.99
<b>II.1 Modèle animal</b>	p.99
<b>II.2 Protocole chirurgical</b>	p.100
II.2.1 Modalités du protocole	p.100
II.2.2 Répartition des implants sur l'arcade	p.100
II.2.3 Gestion des forces masticatoires	p.101
<b>II.3 Choix des systèmes implantaires et design général de l'étude</b>	p.101
<b>II.4 Délais de cicatrisation chez le chien</b>	p.101
<b>II.5 Analyse histologique</b>	p.102
II.5.1 Remodelage osseux et valeur de l'analyse histomorphométrique	p.102
II.5.2 Protocole de traitement en histologie	p.103
II.5.3 Choix du plan de coupe des échantillons	p.103
<b>II.6 Analyse statistique</b>	p.104
II.6.1 Calcul de puissance : détermination du nombre d'animaux nécessaires	p.104
II.6.2 Randomisation	p.106
II.6.3 Choix de la méthode d'analyse statistique	p.106
<b>III / LIMITES ET PERSPECTIVES</b>	p.106
<b>CONCLUSION</b>	p.108
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	p.110

## TABLE DES FIGURES

**Fig. 1** Coupes histologiques vestibulo-linguales de gencive (à gauche) et de muqueuse péri-implantaire (à droite) chez le chien après 2 mois de cicatrisation. Les flèches indiquent de haut en bas le sommet de la gencive marginale, l'extrémité apicale de l'épithélium de jonction, et le sommet de la crête osseuse. Vue vestibulaire, microscopie optique (x40), coloration PAS et bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 1991 dans Lindhe *et al.* 2008).

**Fig. 2** Agrandissement du tissu conjonctif supra-crestal observé figure 1. Les fibres de collagène sont ancrées dans le ciment radiculaire (à gauche) tandis qu'elles restent parallèles à la surface implantaire (à droite) (Berglundh *et al.* 1991 dans Lindhe *et al.* 2008).

**Fig. 3** Interface implant/tissu conjonctif. Des fibroblastes à forme allongée sont interposés entre de fines fibres de collagène parallèlement à la surface implantaire. Microscopie électronique, grossissement x24000 (Moon *et al.* 1999).

**Fig. 4** Vascularisation de la muqueuse péri-implantaire. La vascularisation des tissus mous péri-implantaires est issue des rameaux sous périostés (à gauche). La gencive (à droite) est également irriguée par des vaisseaux issus du desmodonte. Microscopie optique, coupes blanches vestibulo-linguales, vaisseaux contrastés par injection de carbone (Berglundh *et al.* 1994 dans Lindhe *et al.* 2008).

**Fig. 5** Implants et tissus environnants après 8 semaines de cicatrisation. Les fibres de collagène sont ancrées latéralement dans le périoste et se dirigent vers le sommet de la papille. Microscopie optique, lumière polarisée, coloration bleu de toluidine, grossissement x25 (De Sanctis *et al.* 2010).

**Fig. 6** Modélisation 3D de la distribution des fibres de collagène dans le tissu conjonctif péri-implantaire. Fibres verticales en jaune, fibres circulaires en vert, fibres obliques en bleu (Schierano *et al.* 2002).

**Fig. 7** Muqueuse péri-implantaire après 4 jours de cicatrisation. Un réseau de fibrine présentant une forte infiltration de leucocytes est observé à l'interface avec le titane. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine. A gauche x50, au centre x100, à droite x400 (Berglundh *et al.* 2007).

**Fig. 8** Muqueuse péri-implantaire après 4 semaines de cicatrisation. La barrière épithéliale est formée et occupe environ 40 % de la hauteur de la muqueuse. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine. A gauche x50, à droite x100 (Berglundh *et al.* 2007).

**Fig. 9** Muqueuse péri-implantaire après 6 semaines de cicatrisation. A gauche (x50), l'épithélium de jonction a achevé sa maturation et occupe 55% de la hauteur de l'interface. Au centre (x100) : tissu conjonctif situé apicalement à l'épithélium de jonction. A droite (x 200) : extrémité apicale de l'épithélium de jonction. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 2007).

**Fig. 10** Schéma représentant l'espace biologique au niveau d'une dent. Le sulcus ne fait pas partie de l'espace biologique (Lindhe *et al.* 2008).

**Fig. 11** Schémas des mesures histomorphométriques réalisées par Berglundh *et al.* 1991 (à gauche) et Hermann *et al.* 2000-a (à droite). Hermann *et al.* (2000-a) définissent l'espace biologique comme étant la distance entre le sommet de la muqueuse (GM) et le contact os-implant le plus coronaire (fBIC).

**Fig. 12** Histogramme illustrant l'évolution de la dimension verticale de la muqueuse péri-implantaire et des tissus la composant au cours de la cicatrisation (Berglundh *et al.* 2007).

**Fig. 13** A gauche : radiographie d'un implant deux-parts mis en nourrice, à l'issue de la cicatrisation. A droite : radiographie du même implant en fonction un an plus tard. La situation est cliniquement saine, la radiographie rétro-alvéolaire montre une résorption osseuse atteignant la première spire de l'implant. Le niveau osseux initial est indiqué en jaune (Szmukler-Moncler *et al.* 2008).

**Fig. 14** Schémas illustrant le phénomène de cratérisation péri-implantaire. A gauche, vue vestibulaire, à droite, vue occlusale. La perte osseuse a une dimension verticale et horizontale (Zuhr et Hürzeler 2013).

**Fig. 15** Représentation schématique du protocole opératoire et des résultats de l'étude menée par Berglundh *et al.* (1996). A gauche : dans le groupe test, l'épaisseur de la muqueuse est réduite lors de la chirurgie. A droite : après 6 mois de cicatrisation, une résorption osseuse s'est produite dans le groupe test. Dans Lindhe *et al.* 2008.

**Fig.16** Représentation schématique de l'infiltrat inflammatoire du pilier (ICT) localisé à la jonction implant-pilier (AFJ) d'un implant deux-parts (Ericsson *et al.* 1996).

**Fig. 17** Modélisation de l'effet de l'application de forces masticatoires sur une couronne unitaire supportée par un implant deux-parts cylindrique à connectique hexagone : les contraintes sont concentrées au niveau de la jonction implant-pilier et retransmises à l'os marginal (Renouart et Rangert 2005).

**Fig. 18** Schéma du protocole opératoire des études de Hermann *et al.* (2000-b, 2001-a). Le trait noir épais détermine la limite entre l'état de surface lisse et rugueux, le trait pointillé illustre la présence d'un micro-gap.

**Fig. 19** Représentation schématique de la position des tissus muqueux et osseux autour des différents groupes d'implants à l'issue de la période de cicatrisation. Les flèches indiquent la position de l'os crestal au moment de la pose des implants (Hermann *et al.* 2001-a).

**Fig. 20** Schéma de la perte osseuse observée autour des implants deux-parts (à droite). Autour des implants une-part (à gauche) dont la jonction implant-pilier est supra-crestale la perte osseuse est minime lorsque la limite lisse-rugueux est positionnée au niveau crestal. La jonction implant-pilier est représentée par le trait blanc (Jones et Cochran 2006).

**Fig. 21** Différents types de connectiques implantaire. A gauche : schéma d'un hexagone externe vu de dessus (Jakubowicz-Kohen *et al.* 2008). A droite : représentation de l'emboîtement d'un cône morse (Schneck et Chapotat 2011).

**Fig. 22** L'os est présent à proximité du col implantaire de l'implant AstraTech Implants® Dental System (à gauche), il est à distance du col de l'implant Brånemark System®, Nobel Biocare (à droite). Section vestibulo-linguale, coupe non décalcifiée, coloration bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 2005).

**Fig. 23** Principe du platform-switching. Sur le schéma de gauche : joint implant-pilier classique en bout à bout. Sur le schéma de droite : décalage en retrait du joint implant-pilier (Davaparnah *et al.* 2008).

**Fig. 24** Représentation schématique du retrait implant-pilier de 0,85 mm mis en place dans l'étude de Baffone *et al.* (2012).

**Fig. 25** Sections mésio-distales réalisées en microtomographie numérisée : 3.5N (N pour "narrow") : implant de 3,5 mm de large avec une vis de cicatrisation étroite, 4.5N : implant de 4,5 mm avec la même vis de cicatrisation étroite, 3.5W (W pour "wide") : implant de 3,5 mm avec une vis de cicatrisation évasée. L'augmentation de la largeur du retrait implant-pilier entre les groupes 3.5N et 4.5N n'a pas de conséquence sur la position du contact os-implant le plus coronaire. En revanche l'évasement de la vis de cicatrisation pour une même valeur de retrait implant-pilier (comparaison des groupes 3.5N et 3.5W) influe négativement sur la position de l'os marginal (Finelle *et al.* 2014).

**Fig. 26** Schéma de la perte osseuse autour d'implants à connectiques coniques et hexagonales externes placés en position juxta-crestale (à gauche) et infra-crestale (à droite). La distance épaule de l'implant/ contact osseux le plus coronaire est la plus faible pour les implants à connectique cône morse placés en position sous crestale (Weng *et al.* 2010).

**Fig. 27** Modélisation de l'organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif autour d'implants sans (à gauche) et avec (à droite) platform-switching (Rodriguez *et al.* 2012).

**Fig. 28** Organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif supra-crestal d'un implant à connectique cône morse. A gauche, proche de la surface implantaire, les fibres de collagène sont orientées de manière

parallèle-oblique. Plus à distance (à droite), les fibres sont orientées perpendiculairement. Microscopie optique, cutting-grinding, lumière polarisée, coloration bleu de toluidine et fushine basique, grossissement x40 (Degidi *et al.* 2012).

**Fig. 29** Photographies d'implants une-part à différentes géométries de col implantaire. A gauche : profil évasé, au centre : profil concave, à droite : profil droit (Kim *et al.* 2010).

**Fig. 30** A gauche : implant deux-parts festonné (Abrahamsson *et al.* 2014). A droite : implant une-part festonné (Wörhle *et al.* 2003).

**Fig. 31** Schéma des piliers de cicatrisation droits et évasés utilisés dans l'étude de López-López *et al.* (2014).

**Fig. 32** Photographie des vis de cicatrisation utilisées dans l'étude de Delgado-Ruiz *et al.* (2015). Vis concave (à gauche) et évasée (à droite).

**Fig. 33** Schéma de la méthodologie de mesure histomorphométrique de l'épaisseur de la muqueuse péri-implantaire à 3 niveaux : basal, médial et coronal (Delgado-Ruiz *et al.* 2015). La muqueuse est plus fine au niveau médial et coronal autour des vis concaves (à gauche) en comparaison avec les vis évasées (à droite). Il apparaît clairement sur cette image qu'au niveau médial et coronal le tissu conjonctif est en fait en relation avec une convexité du pilier sur les vis concaves.

**Fig. 34** Représentation schématique du remodelage osseux entraîné par l'enfouissement du col implantaire lisse des implants une-part (Buser *et al.* 2004).

**Fig. 35** Diagramme illustrant la place de l'expérimentation animale en implantologie dans le schéma de validation scientifique par le biais de la recherche.

**Fig. 36** Diagramme récapitulatif des éléments à justifier dans le dossier de demande d'autorisation à l'expérimentation animale auprès du comité d'éthique rattaché à la structure d'accueil.

**Fig. 37** Photographies de la réalisation d'une biopsie de tissus mous péri-implantaires attachés au pilier expérimental de faible diamètre par une technique de punch (a,b,c,d) et mise en place de la vis provisoire (e) de diamètre adapté à la future restauration (f) (Tomasi *et al.* 2014).

**Fig. 38** Coupes histologiques vestibulo-linguales décrivant le profil de la crête osseuse édentée au cours de la cicatrisation post-extractionnelle. De gauche à droite : à 1, 2, 4 et 8 semaines après extraction. En lingual (à gauche sur chaque coupe) la crête est préservée tandis qu'en vestibulaire (à droite) une résorption supérieure à 2 mm est observée (Araújo *et al.* 2008).

**Fig. 39** Grille de lecture superposée aux coupes histologiques. Trois zones sont définies dans le plan horizontal : interne (I), médiale (M), et externe (E) et trois zones dans le plan vertical : coronaire, médiale et basale (Delgado-Ruiz *et al.* 2015).

**Fig. 40** Schéma des différentes orientations des fibres de collagène par rapport au pilier implantaire ; A : os, B : pilier implantaire (Delgado-Ruiz *et al.* 2015).



## TABLE DES TABLEAUX

**Tab. 1** Version modifiée des guidelines ARRIVE (Vignoletti *et al.* 2012).

**Tab. 2** Similitudes entre l'os humain et l'os animal (Pearce *et al.* 2007).

**Tab. 3** Détermination du nombre de modèles en fonction de la taille de l'effet et de la puissance.

## INTRODUCTION : Evolution des concepts et des enjeux en implantologie orale

Dans les années 1970, Brånemark et son équipe introduisent le concept d'ostéointégration d'implants usinés en titane et définissent ce phénomène comme une « jonction anatomique et fonctionnelle directe entre l'os vivant remanié et la surface de l'implant mis en charge » (Brånemark *et al.* 1969, 1977). Histologiquement, ce phénomène se traduit par un ancrage direct d'un implant en titane dans le tissu osseux. Radiographiquement l'os est au contact du fût implantaire et cliniquement l'implant ainsi ankylosé sert de support à une réhabilitation prothétique.

Une série de paradigmes, pré-requis indispensables pour obtenir l'ostéointégration, sont émis à cette époque par l'école suédoise (Szmukler-Moncler *et al.* 2000). Selon ce protocole, l'implant doit être positionné en situation juxta-osseuse et laissé en nourrice pendant 3 à 6 mois. Une operculisation de la gencive est réalisée dans un second temps chirurgical afin de mettre en place un pilier de cicatrisation, l'implant étant ainsi « mis en fonction ». Cinq à huit mois après la pose de l'implant, la prothèse est positionnée sur l'implant : étape finale également appelée « mise en charge ». L'objectif de ce protocole est d'éviter une possible contamination bactérienne de l'interface os-implant et de limiter les contraintes mécaniques appliquées sur l'implant au cours de la cicatrisation. Selon ces auteurs, le non respect de ces règles risque d'entraîner la formation d'une capsule fibreuse autour de l'implant appelée fibrointégration, signe d'échec de l'ostéointégration (Albrektsson *et al.* 1986). Les indications de traitement sont limitées à cette époque à la réhabilitation d'arcades totalement édentées par prothèses adjointes implanto-portées transvissées.

Parallèlement aux travaux de l'école suédoise, une équipe suisse (Schroeder, 1974) décrit la possibilité de placer des implants dentaires en un temps chirurgical, à l'aide d'implant à col transmuqueux, autrement appelés « non-enfouis » ou « une-part » (par opposition aux implants Brånemark appelés « deux-parts » ou « enfouis »). Le col de l'implant émerge à travers la gencive, et à l'issue de la période de cicatrisation, le pilier prothétique et la prothèse sont mis en place sans perturber les tissus gingivaux.

Il est admis actuellement que ces deux protocoles permettent d'obtenir des résultats identiques en terme de succès clinique, défini comme la persistance de l'implant sur l'arcade à long terme. Ainsi l'enfouissement sous gingival des implants deux-parts n'est pas nécessaire à leur intégration osseuse (Boioli *et al.* 2001).

Depuis les années 1970, l'amélioration constante des propriétés mécaniques et biologiques des dispositifs implantables, le développement des techniques chirurgicales, associés à une meilleure connaissance des processus biologiques conduisant à la cicatrisation des tissus péri-implantaires, ont permis d'améliorer les protocoles de traitement et d'étendre les possibilités thérapeutiques : réduction des délais de cicatrisation, restaurations unitaires et plurales, techniques d'augmentation osseuse,

réhabilitations esthétiques, protocoles d'implantation et de mise en charge immédiate... font aujourd'hui partie intégrante de l'arsenal thérapeutique de l'implantologiste. L'implant dentaire en titane constitue de nos jours une solution prédictible pour le traitement des édentements unitaires, partiels ou totaux avec des taux de succès « fonctionnels », en terme de maintien de l'implant sur l'arcade, supérieurs à 98% pour un recul de 7 ans (French *et al.* 2014).

L'ostéointégration est un processus maîtrisé et les exigences thérapeutiques ont évolué. L'un des grands challenges de l'implantologie moderne consiste à obtenir des résultats naturels dans les situations esthétiques et de maintenir les tissus péri-implantaires sains et stables, à un niveau le plus coronaire possible au cours du temps. La muqueuse péri-implantaire constitue un véritable « sceau » biologique qui assure la stabilité de l'ostéointégration. Mais le niveau marginal de la muqueuse péri-implantaire, qui est essentiel pour une bonne esthétique dépend du niveau du support osseux sous-jacent. Il existe donc une réelle interaction entre la muqueuse qui protège la partie ostéointégrée de l'implant du milieu buccal et l'os marginal péri-implantaire qui soutient la muqueuse. Dès lors, il est crucial de permettre la mise en place d'une barrière muqueuse protectrice efficace tout en préservant l'os marginal au cours des premières semaines de cicatrisation.

La conception implantaire influence de manière très importante l'intégration des tissus au niveau du col de l'implant lors de la cicatrisation.

L'objet du travail de recherche présenté dans ce manuscript est d'analyser histologiquement chez le Beagle l'influence de deux systèmes implantaires innovants sur les remodelages tissulaires marginaux intervenant après la pose de l'implant, en l'absence de mise en charge.

La première partie de ce mémoire s'attache à établir une synthèse bibliographique des données histologiques actuelles concernant d'une part les caractéristiques et les processus de cicatrisation des tissus péri-implantaires, et d'autre part l'influence de la conception implantaire sur les remodelages tissulaires marginaux intervenant au cours de la cicatrisation. Les deux articles issus de notre travail expérimental de thèse sont présentés dans la deuxième partie. La troisième partie est consacrée à la discussion de l'intérêt de l'expérimentation animale en implantologie, des éléments qui ont guidé l'élaboration du protocole opératoire, des limites de cette étude, et à la mise en perspective de ce travail.

# 1<sup>ère</sup> PARTIE

## Caractéristiques des tissus péri-implantaires Influence de la conception implantaire sur l'espace biologique et le remodelage osseux marginal péri-implantaire précoce Revue de littérature : études histologiques

L'agression tissulaire qui résulte de la mise en place chirurgicale d'un implant entraîne une cascade d'événements biologiques dont la finalité est l'ostéointégration du corps de l'implant et l'attache de la muqueuse au niveau du col implantaire.

Dans cette partie, nous abordons tout d'abord les notions d'espace biologique et de remodelage osseux marginal péri-implantaire. Puis, nous nous intéressons à l'influence de la configuration implantaire sur les remaniements tissulaires marginaux précoces. Du fait de la transdisciplinarité du jury, il nous a semblé important de faire quelques rappels concernant l'histologie des tissus péri-implantaires et la conception des systèmes implantaires.

### **I / CARACTERISTIQUES HISTOLOGIQUES, CICATRISATION ET REMODELAGE DES TISSUS PERI-IMPLANTAIRES**

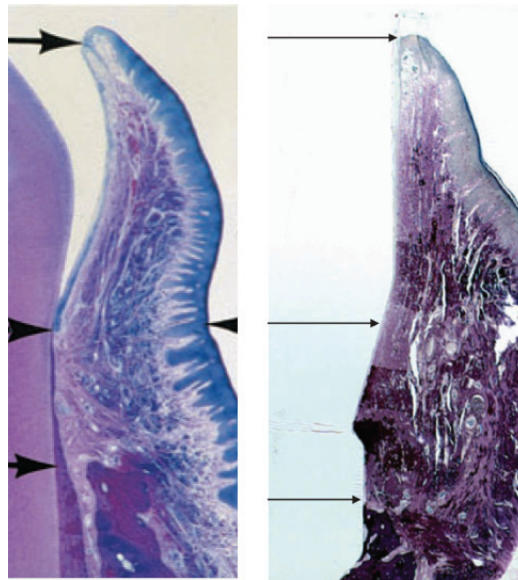
---

#### **I.1 La muqueuse péri-implantaire et l'espace biologique**

Le terme « muqueuse péri-implantaire » désigne les tissus mous sertissant l'implant. Secondairement à la fermeture du lambeau mucopériosté faisant suite à la pose de l'implant, (technique en un temps chirurgical), ou à la mise en place de la vis de cicatrisation (technique en deux temps chirurgicaux), la cicatrisation des tissus mous aboutit à la formation d'une attache péri-implantaire. Cette muqueuse constitue un manchon étanche qui protège l'os péri-implantaire du milieu buccal préservant ainsi l'ostéointégration.

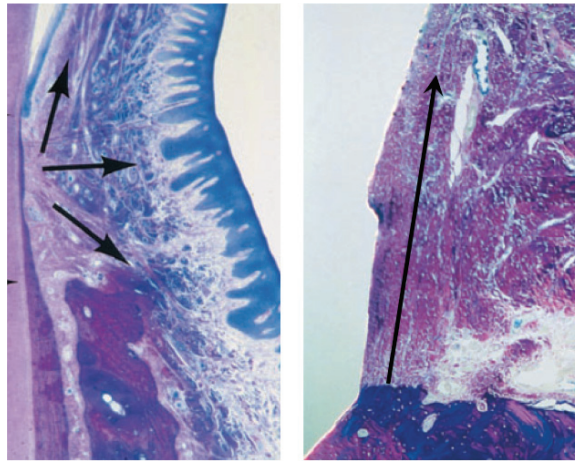
### I.1.1 Description générale

Berglundh *et al.* (1991) ont réalisé une étude comparative de la structure et de l'organisation de la gencive et de la muqueuse péri-implantaire saine. Après 8 semaines de cicatrisation chez le Beagle, il apparaît que les deux tissus présentent des caractères microscopiques communs. Ils sont tous deux bordés d'un épithélium kératinisé en continuité avec un épithélium jonctionnel d'environ 2 mm de long. Cet épithélium de jonction est lui-même séparé de l'os alvéolaire par une zone de tissu conjonctif d'environ 1 à 1,5 mm de haut (fig.1).



**Fig. 1** Coupes histologiques vestibulo-linguales de gencive (à gauche) et de muqueuse péri-implantaire (à droite) chez le chien après 2 mois de cicatrisation. Les flèches indiquent de haut en bas le sommet de la gencive marginale, l'extrémité apicale de l'épithélium de jonction, et le sommet de la crête osseuse. Vue vestibulaire, microscopie optique (x40), coloration PAS et bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 1991 dans Lindhe *et al.* 2008).

C'est au niveau du tissu conjonctif que se situent les principales différences. Les fibres collagéniques péri-implantaires ne s'ancrent pas sur la surface du titane et sont orientées parallèlement à la surface implantaire (fig. 2). Les auteurs rapportent également que cette zone de tissu conjonctif faisant face à la dent ou à l'implant est dénuée d'infiltrat inflammatoire. Ils en concluent qu'en présence d'un bon contrôle de plaque, la muqueuse péri-implantaire et la gencive ont la capacité de prévenir la formation de la plaque sous-gingivale.



**Fig. 2** Agrandissement du tissu conjonctif supra-crestal observé figure 1. Les fibres de collagène sont ancrées dans le ciment radiculaire (à gauche) tandis qu'elles restent parallèles à la surface implantaire (à droite) (Berglundh *et al.* 1991 dans Lindhe *et al.* 2008).

### I.1.2 Nature de l'interface muqueuse / implant (d'après Sculean *et al.* 2014)

La nature de l'interface muqueuse-implant a été peu étudiée du fait de la difficulté d'observer l'interface liée aux méthodes de préparation histologiques en présence d'un implant en titane. Les deux principales techniques utilisées en histologie des tissus péri-implantaires sont le « cutting-grinding » et la « fracture technique » :

- La technique de « cutting-grinding » consiste à user la biopsie contenant l'implant jusqu'à ce qu'elle soit assez fine pour être observée au microscope (40  $\mu\text{m}$ ), elle a été décrite par Donath et Breuner en 1982. Cette méthode permet de conserver l'implant dans la coupe histologique, l'interface est préservée mais son analyse est limitée.
- La « fracture technique », méthode qui consiste à déminéraliser l'os pour séparer les tissus de l'implant avant l'inclusion, a été décrite par Thomsen et Ericsson en 1985. Elle a pour intérêt de permettre la réalisation de coupes histologiques très fines et d'observer l'interface en microscopie électronique. L'analyse précise de l'interface est impossible du fait des dommages entraînés par la séparation de l'implant.

L'observation précise de l'interface titane/muqueuse en microscopie électronique a été possible en utilisant des implants en plastique recouverts d'une fine feuille de titane (Gould *et al.* 1984), des implants en résine époxy (Listgarden et Lai 1975), ou en utilisant la méthode de cryo-fracture pour séparer l'implant des tissus après inclusion en préservant l'interface (Listgarden et Lai 1975, McKinney *et al.* 1985, Hashimoto *et al.* 1989).

Ces études rapportent que la structure de l'épithélium de jonction péri-implantaire est comparable à celle des dents. L'épithélium de jonction est attaché à la surface implantaire comme sur la surface dentaire par l'intermédiaire d'hémidesmosomes et d'une lame basale interne. En revanche, au niveau du compartiment conjonctif, ces études confirment que les fibres de collagène ne s'insèrent pas sur la surface implantaire.

### I.1.3 Caractéristiques du tissu conjonctif

#### *Composition générale*

Le tissu conjonctif péri-implantaire est de type cicatriciel : il est moins vascularisé que le tissu conjonctif gingival (2% contre 5%), plus riche en fibres de collagène (85% contre 70%), et contient moins de fibroblastes (8% contre 20%) (Abrahamsson *et al.* 1996).

Selon Moon *et al.* (1999), ce tissu est organisé en deux zones : une couche interne (sur une largeur de 0 à 40  $\mu\text{m}$ ), faiblement vascularisée et riche en fibroblaste ; et une couche externe plus vascularisée et plus riche en fibres de collagène. Les fibroblastes joueraient un rôle important dans le maintien de l'adhésion du tissu conjonctif péri-implantaire sur la surface implantaire (fig. 3).

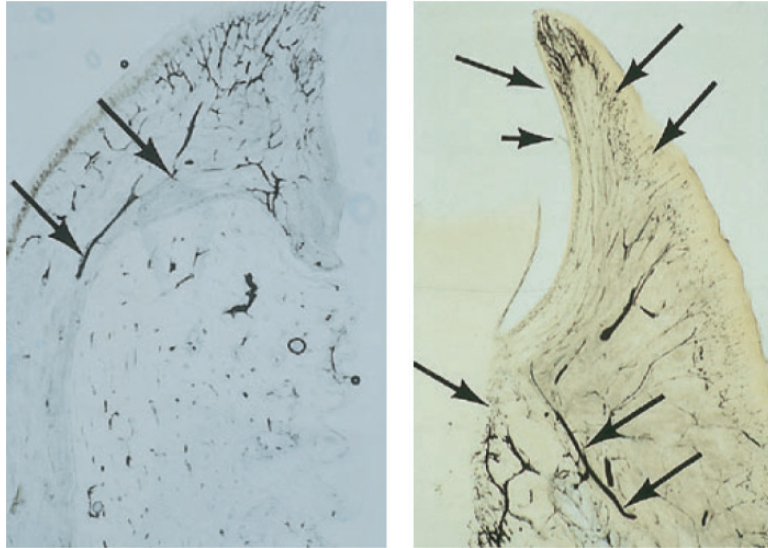


**Fig. 3** Interface implant/tissu conjonctif. Des fibroblastes à forme allongée sont interposés entre de fines fibres de collagène parallèlement à la surface implantaire. Microscopie électronique, grossissement x24000 (Moon *et al.* 1999).

#### *Vascularisation*

La vascularisation de la gencive provient de deux sources indépendantes : des vaisseaux supra-périostés localisés sur la face externe de l'alvéole et un plexus vasculaire issu du ligament alvéolo-dentaire (fig. 4). Les examens microscopiques menés par Berglundh *et al.* (1994) ont permis de mettre en évidence que le réseau vasculaire péri-implantaire provient d'un seul vaisseau supra-crestal qui émet des ramifications en direction de la surface implantaire. La muqueuse péri-implantaire ne bénéficie pas de la vascularisation issue du ligament parodontal (fig. 4). Le tissu conjonctif supra-osseux longeant les implants est donc très peu vascularisé.

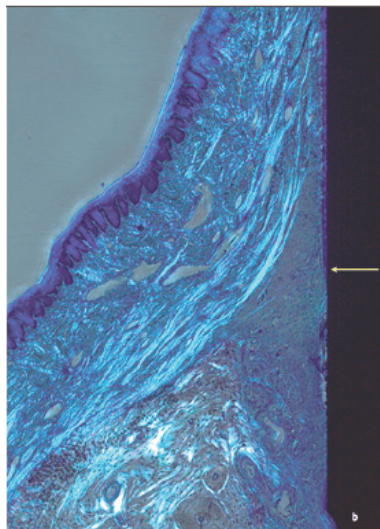




**Fig. 4** Vascularisation de la muqueuse péri-implantaire. La vascularisation des tissus mous péri-implantaires est issue des rameaux sous périostés (à gauche). La gencive (à droite) est également irriguée par des vaisseaux issus du desmodonte. Microscopie optique, coupes blanches vestibulo-linguales, vaisseaux contrastés par injection de carbone (Berglundh *et al.* 1994 dans Lindhe *et al.* 2008).

#### *Organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif*

Les fibres collagéniques sont, dans la zone la plus latérale de l'attache, ancrées au périoste sur le sommet de la crête et dirigées vers le sommet de la papille selon le grand axe de l'implant (Berglundh *et al.* 1991, 2007, Buser *et al.* 1992) (fig. 5).



**Fig. 5** Implants et tissus environnants après 8 semaines de cicatrisation. Les fibres de collagène sont ancrées latéralement dans le périoste et se dirigent vers le sommet de la papille. Microscopie optique, lumière polarisée, coloration bleu de toluidine, grossissement x25 (De Sanctis *et al.* 2010).



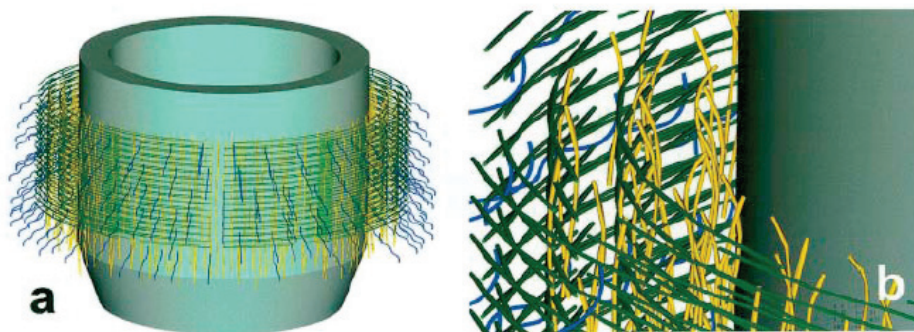
Dans la zone interne ou médiale, plus proche du composant implantaire, l'organisation des fibres de collagène est controversée : les fibres de collagène issues de la crête osseuse se dirigent de manière plus ou moins perpendiculaire et convergente pour s'organiser de manière parallèle, circulaire ou dans un réseau tridimensionnel autour de la structure implantaire.

Selon Buser *et al.* (1992) les fibres de collagènes s'organisent de façon concentrique et participent au sceau de l'attache dans la zone la plus proche de l'implant (0 à 100  $\mu\text{m}$ ).

Ruggeri *et al.* (1992) ont également rapporté la présence de fibres de collagène organisées de manière circulaire au contact du col d'implants une-part après mise en charge chez le singe.

Moon *et al.* (1999) ont observé des fibres de collagène arrangées de façon circulaire autour du col implantaire à une distance de 40  $\mu\text{m}$  par rapport à l'interface et sur une largeur de 160  $\mu\text{m}$ .

Plus récemment, une modélisation en 3D de l'organisation des fibres de collagène dans le tissu-conjonctif péri-implantaire réalisée après 1 an de mise en charge chez l'Homme a permis de mettre en évidence trois types d'orientation des fibres de collagène (Schierano *et al.* 2002) : des fibres verticales et parallèles à la surface implantaire dans la zone interne (de 0 à 200  $\mu\text{m}$ ), des fibres circulaires entremêlées dans la zone de 200 à 800  $\mu\text{m}$ , et des fibres obliques dans la partie la plus externe (fig. 6).



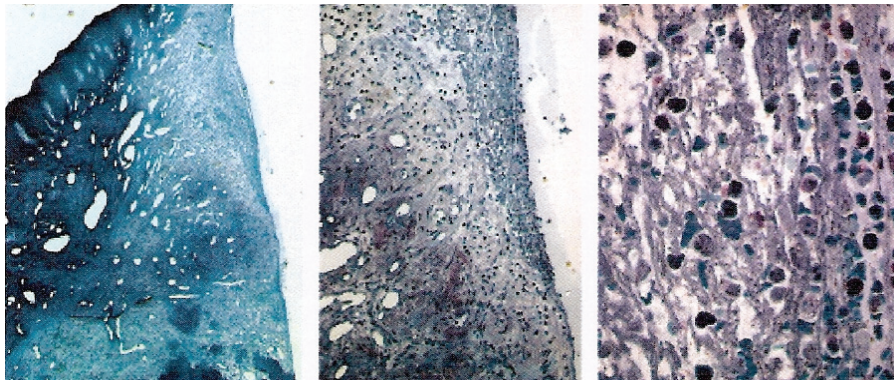
**Fig. 6** Modélisation 3D de la distribution des fibres de collagène dans le tissu conjonctif péri-implantaire. Fibres verticales en jaune, fibres circulaires en vert, fibres obliques en bleu (Schierano *et al.* 2002).

Selon Schubach et Glauser (2007), une organisation fonctionnelle des fibres de collagène offrirait une meilleure résistance mécanique au tissu conjonctif et préviendrait la migration apicale de l'épithélium de jonction. L'orientation la plus favorable des fibres de collagène dans le tissu conjonctif bordant l'implant semble être l'orientation perpendiculaire par rapport au col implantaire.

#### I.1.4 Processus et délai de cicatrisation de la muqueuse

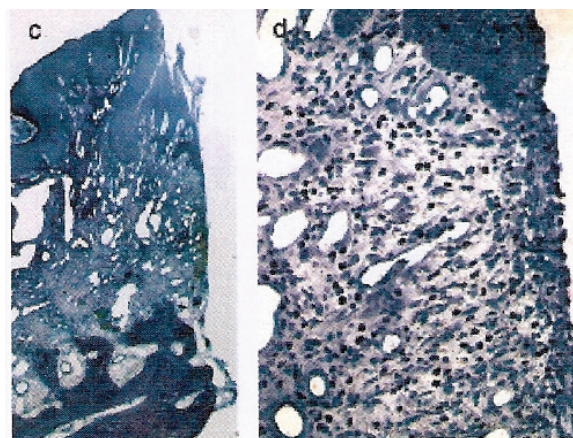
Berglundh *et al.* (2007) décrivent la morphogénèse de l'attache muqueuse sur des implants en titane pur, à col transgingival et de surface lisse chez le modèle Beagle. Après élévation d'un lambeau muco-périosté, les implants sont mis en place dans des crêtes édentées cicatrisées. Des biopsies sont réalisées à différents intervalles de H+ 2 heures à J+12 semaines.

Deux heures après l'intervention, l'espace entre la muqueuse, l'implant et la crête osseuse est comblé par un caillot sanguin. Quatre jours après l'intervention, un tissu initial est formé constitué de leucocytes et d'un dense réseau de fibrine (fig. 7).



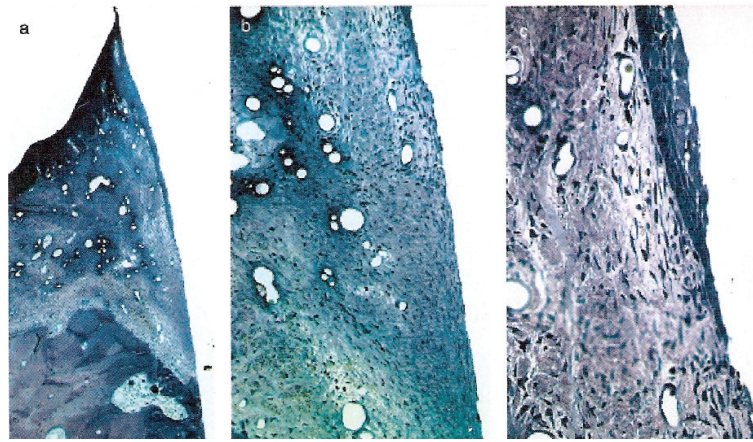
**Fig. 7** Muqueuse péri-implantaire après 4 jours de cicatrisation. Un réseau de fibrine présentant une forte infiltration de leucocytes est observé à l'interface avec le titane. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine. A gauche x50, au centre x100, à droite x400 (Berglundh *et al.* 2007).

Après deux semaines de cicatrisation, la muqueuse péri-implantaire adhère à la surface implantaire par l'intermédiaire d'un tissu conjonctif riche en structures vasculaires et cellulaires. Dans la portion la plus marginale de ce tissu, les premiers signes de la formation de l'épithélium de jonction sont visibles. Quatre semaines après la chirurgie, une barrière épithéliale est formée (fig. 8) et le tissu conjonctif montre quelques signes d'organisation.



**Fig. 8** Muqueuse péri-implantaire après 4 semaines de cicatrisation. La barrière épithéliale est formée et occupe environ 40 % de la hauteur de la muqueuse. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine. A gauche x50, à droite x100 (Berglundh *et al.* 2007).

Après 6 semaines de cicatrisation, la maturation tissulaire est effective : la formation de l'épithélium de jonction est complète, et les fibres de collagène du tissu conjonctif sont organisées (fig. 9).



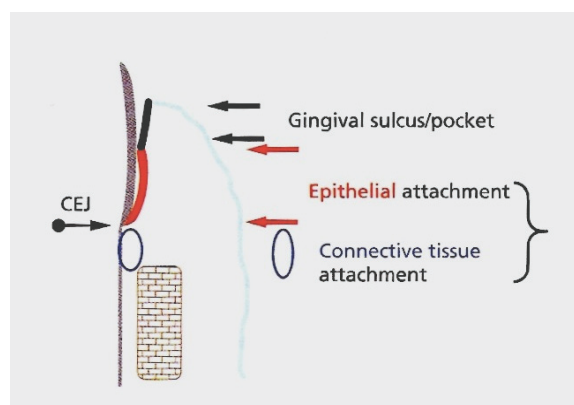
**Fig. 9** Muqueuse péri-implantaire après 6 semaines de cicatrisation. A gauche (x50), l'épithélium de jonction a achevé sa maturation et occupe 55% de la hauteur de l'interface. Au centre (x100) : tissu conjonctif situé apicalement à l'épithélium de jonction. A droite (x 200) : extrémité apicale de l'épithélium de jonction. Coupes décalcifiées, microscopie optique, coloration PAS et bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 2007).

Une dynamique de cicatrisation similaire est retrouvée dans d'autres études chez le Beagle (Schwarz *et al.* 2007, Vignoletti *et al.* 2009) et chez l'Homme (Tomasi *et al.* 2014). Un délai de 8 semaines est nécessaire à la cicatrisation de la muqueuse péri-implantaire chez l'Homme.

### I.1.5 Espace biologique

#### *Notion d'espace biologique*

Le concept d'« espace biologique » fait référence à la dimension verticale incompressible de la gencive (Gargiulo *et al.* 1961). Ainsi, dans un contexte de santé parodontale, l'attache conjonctive gingivale a une dimension verticale de 1,06 à 1,08 mm et l'attache épithéliale de 1,4 mm. L'espace biologique nécessaire à la mise en place des tissus mous autour de la dent est de 2,5 mm (fig. 10). Selon Berglundh et Lindhe (1996) la mesure verticale minimale de la muqueuse péri-implantaire est d'environ 3,5 mm.



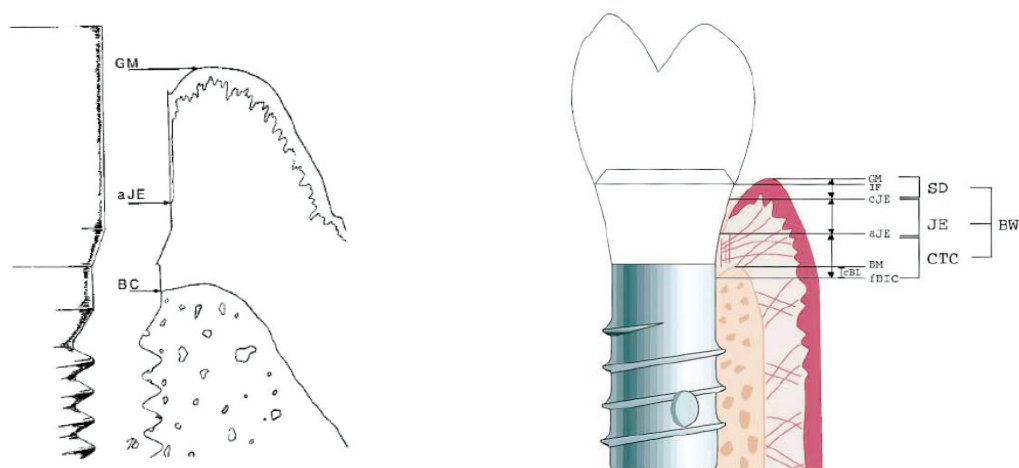
**Fig. 10** Schéma représentant l'espace biologique au niveau d'une dent. Le sulcus ne fait pas partie de l'espace biologique (Lindhe *et al.* 2008).

#### *Terminologie*

Lindhe *et al.* (2009-a) définissent l'espace biologique comme étant la somme de la hauteur de l'épithélium de jonction et du tissu conjonctif : le sulcus n'en faisant donc pas partie (fig. 10). La distance du sommet de la muqueuse jusqu'au contact osseux est appelée « hauteur de la muqueuse péri-implantaire » dans toutes les études histologiques réalisées par ce groupe (Berglundh *et al.* 1991, Berglundh et Lindhe 1996, Berglundh *et al.* 2007).

En revanche dans les études réalisées par le groupe de Cochran (Hermann *et al.* 2000-a, Hermann *et al.* 2001-a) l'espace biologique est défini comme correspondant à la hauteur de la muqueuse péri-implantaire, c'est à dire la somme des mesures verticales du sulcus, de l'épithélium de jonction et du tissu conjonctif (fig. 11).

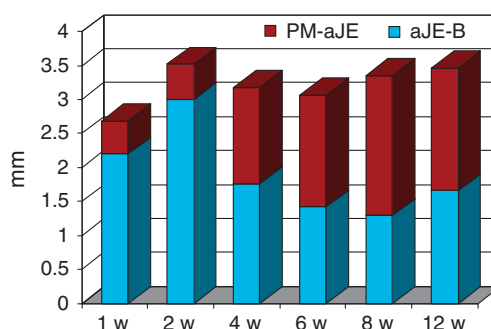
Nous avons observé au fil de nos lectures que cette terminologie est reprise par la suite dans la quasi totalité des études histologiques concernant l'étude des tissus mous péri-implantaires réalisées par d'autres groupes que celui de Lindhe.



**Fig. 11** Schémas des mesures histomorphométriques réalisées par Berglundh *et al.* 1991 (à gauche) et Hermann *et al.* 2000-a (à droite). Hermann *et al.* (2000-a) définissent l'espace biologique comme étant la distance entre le sommet de la muqueuse (GM) et le contact os-implant le plus coronaire (fBIC).

### *Variations dimensionnelles de la muqueuse péri-implantaire*

D'après les résultats de l'étude de Berglundh *et al.* (2007) concernant la morphogénèse des tissus péri-implantaires, la mesure verticale de la muqueuse varie peu au cours de la cicatrisation. En revanche, les dimensions des tissus la composant évoluent. La maturation épithéliale se traduit par une migration apicale de l'épithélium de jonction, au détriment du tissu conjonctif, de la 2<sup>e</sup> à la 6<sup>e</sup> semaine de cicatrisation. Après 6 semaines de cicatrisation la hauteur épithéliale reste constante (fig.12).



**Fig. 12** Histogramme illustrant l'évolution de la dimension verticale de la muqueuse péri-implantaire et des tissus la composant au cours de la cicatrisation (Berglundh *et al.* 2007).

La valeur de l'espace biologique reste constante de la fin de la cicatrisation jusqu'à 12 mois de mise en charge (Cochran *et al.* 1997, Hermann *et al.* 2000-a).



### I.1.6 Facteurs influençant les caractéristiques de la muqueuse péri-implantaire et de l'espace biologique

L'analyse de la littérature révèle que les facteurs pouvant influencer sur l'organisation et les dimensions de la muqueuse péri-implantaire se répartissent en plusieurs catégories (De Sanctis *et al.* 2010) :

- le protocole chirurgical,
- le délai de mise en charge,
- le matériau et l'état de surface du pilier,
- la structure et la position de l'implant par rapport à la crête osseuse.

Les 3 premiers aspects sont abordés dans ce paragraphe. Le dernier facteur est détaillé et mis en relation avec le phénomène de remodelage osseux péri-implantaire marginal dans le paragraphe II de cette partie.

#### *Influence du protocole chirurgical et du délai de mise en charge*

Différentes études montrent que les techniques chirurgicales enfouies (mise en place différée de la vis de la cicatrisation) ou non enfouies (mise en place de la vis de cicatrisation dans le même temps que l'implant) n'ont pas de conséquence sur la composition, les dimensions et l'organisation de l'espace biologique (Abrahamsson *et al.* 1996, Ericsson *et al.* 1996, Hermann *et al.* 2000-a).

Les conséquences des protocoles d'implantation / mise en charge immédiate ont également été étudiées dans la littérature. Les travaux de Siar *et al.* (2003) et Quaranta *et al.* (2008) rapportent que les dimensions du sulcus, de l'épithélium de jonction et du tissu conjonctif sont similaires dans le cas d'implants mis en charge immédiatement ou après ostéointégration. La revue de littérature réalisée par Glauser *et al.* en 2006 conclut que l'organisation de l'espace biologique sur des implants ostéointégrés est identique que les implants aient été mis en charge immédiatement ou de manière différée.

Différents travaux ont été réalisés sur les dimensions de l'espace biologique dans les cas d'extraction / implantation immédiate (Araújo *et al.* 2005, 2006, Vignoletti *et al.* 2009, Rimondini *et al.* 2005). Il ressort de ces études que les dimensions de l'espace biologique sont plus importantes en comparaison avec les valeurs retrouvées lors d'implantation dans des crêtes cicatrisées en particulier au niveau des faces vestibulaires (Araújo *et al.* 2005, 2006). L'étiologie de cette prolifération de la muqueuse en direction apicale reste à établir mais pourrait s'expliquer par la résorption osseuse post-extractionnelle.

Enfin, il semble que lorsque la chirurgie implantaire est réalisée sans élever de lambeau muco-périosté (« flapless »), les dimensions de la muqueuse péri-implantaire soient réduites (Blanco *et al.* 2008, You *et al.* 2009) et que cette approche chirurgicale permette d'obtenir une meilleure revascularisation de la muqueuse (Kim *et al.* 2009).

### *Influence du matériau du pilier*

Selon Abrahamsson *et al.* (1998) et Welander *et al.* (2008) le matériau utilisé pour le pilier implantaire a un impact sur la localisation verticale de la muqueuse péri-implantaire. L'utilisation de piliers en zircone permet d'obtenir une attache de même type que celle observée sur des piliers en titane tandis que la cicatrisation est de moindre qualité sur les piliers en céramique porcelaine, en alliage d'or ou en platine. En revanche une autre étude du même groupe montre que les caractéristiques de la muqueuse ne sont pas influencées par l'utilisation d'alliages d'or ou de titane au niveau de la portion transgingivale d'implants une-part (Abrahamsson et Cardoropoli 2007). Kohal *et al.* (2004) ont observé les mêmes dimensions d'espace biologique autour de piliers en zircone et en titane. Enfin, les revues de littératures réalisées par Rompen *et al.* (2006, 2012) concluent que le titane, la zircone et l'oxyde d'alumine sont biocompatibles avec les tissus mous mais que la porcelaine dentaire et l'or ne doivent pas être utilisés.

Tetè *et al.* (2009) ont évalué l'influence du matériau transmuqueux sur l'orientation des fibres de collagène. Il ressort de cette étude que l'orientation des fibres de collagène est similaire autour du col d'implants « une-part » en titane et en zircone. La majorité des fibres de collagène ont une orientation parallèle ou parallèle oblique à la surface implantaire.

### *Influence de l'état de surface du composant implantaire transmuqueux*

L'influence de la microtopographie et de la chimie de la surface implantaire transmuqueuse sur les dimensions de l'espace biologique et la qualité de l'attache a été largement étudiée. Selon Abrahamsson *et al.* (2001, 2002) et Zitzmann *et al.* (2002) l'état de surface lisse ou rugueux du pilier de cicatrisation ou du col implantaire ne semble pas influencer la qualité de l'attache et sa dimension. Cependant, une apicalisation moins importante de l'épithélium de jonction et un tissu conjonctif plus long ont été mis en évidence sur des surfaces rugueuses en comparaison des surfaces lisses chez l'Homme (Glauser *et al.* 2005, Ferreira Borges et Dragoo 2010). De plus, les tissus péri-implantaires semblent plus solidement attachés sur la surface implantaire modifiée par rapport à la surface lisse après 3 mois de cicatrisation chez le chien (Rossi *et al.* 2008). Selon Schwarz *et al.* (2007), l'intégration des tissus mous est influencée par l'hydrophilie plus que par la microtopographie de surface après 1, 4, 7, 14 et 28 jours de cicatrisation chez le chien mais ces résultats n'ont pas été confirmés après 8 semaines de cicatrisation chez l'Homme (Schwarz *et al.* 2013).

D'autres études ont évalué l'influence de l'état de surface du composant implantaire transmuqueux sur l'orientation des fibres de collagène du tissu conjonctif. Yamano *et al.* (2011) ont décrit une orientation parallèle et régulière des fibres de collagène autour d'implants à surface lisse chez le rat alors que l'orientation est plus irrégulière sur une surface rugueuse. Ces résultats corroborent ceux de l'étude de Schroeder *et al.* (1981), qui rapporte une orientation perpendiculaire

des fibres de collagène vers la surface implantaire d'implant TPS à surface plasma-spray. Schupbach et Glauser (2007) ont observé sur des biopsies humaines que les fibres de collagène sont orientées de manière fonctionnelle dans une direction plus ou moins perpendiculaire aux cols implantaires à surface rugueuse alors que cette organisation n'est pas retrouvée avec des surfaces lisses. Néanmoins, d'autres auteurs concluent que l'état de surface n'influence pas l'orientation des fibres de collagène (Comut *et al.* 2001, Listgarden *et al.* 1992).

Enfin, la corrélation entre l'état de surface du composant implantaire transmuqueux et l'état inflammatoire des tissus mous péri-implantaires a été analysée. Selon Zitzmann *et al.* (2002) il n'y a pas de différence en terme de quantité de plaque sous-gingivale et d'inflammation après 6 mois d'accumulation de plaque sur des piliers rugueux et lisses chez le chien. Wennerberg *et al.* (2003) n'ont pas mis en évidence de relation entre la rugosité de surface, l'inflammation et la présence de plaque après 4 semaines chez l'Homme. Selon Rossi *et al.* (2008), un détachement épithélial moindre est observé sur les cols implantaires rugueux en comparaison avec les cols lisses.

Pour conclure, ces données semblent indiquer qu'un état de surface rugueux offrirait une meilleure « accroche » pour les tissus mous sur le pilier ou le col implantaire, et favoriserait la présence de fibres de collagène orientées perpendiculairement au composant implantaire. Cependant, un état de surface rugueux favorise l'accumulation du biofilm et pourrait donc constituer un facteur de risque important pour le développement des mucosites et des péri-implantites (Subramani *et al.* 2009). Pour cette raison, l'utilisation de composants implantaires rugueux au niveau transmuqueux est peu développée en pratique clinique.

Des revêtements biologiques résorbables sont testés pour améliorer la cicatrisation de la muqueuse et son accroche sur le titane. Ses voies de recherche ne sont pas abordées dans le cadre de ce travail. L'influence des modifications de surface macroscopique est discutée dans le paragraphe II.4.

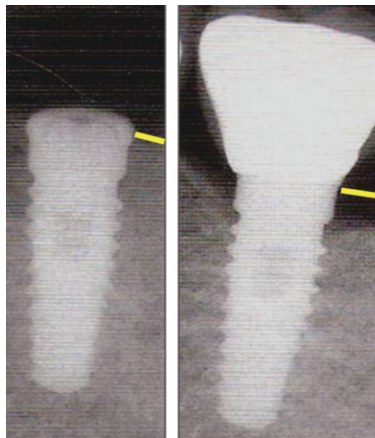


## I.2 Le remodelage osseux péri-implantaire

### I.2.1 La cratérisation péri-implantaire

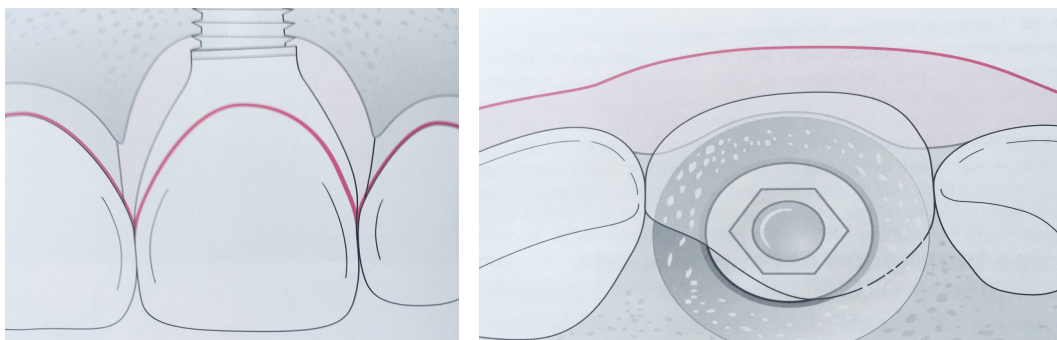
Les revues de la littérature d'études cliniques réalisées par Albrektsson *et al.* 1986, Smith et Zarb en 1989 et Jung *et al.* en 1996 décrivent une perte osseuse péri-implantaire angulaire de l'ordre de 1 à 1,5 mm la première année suivant la mise en charge, puis une perte osseuse de 0,2 mm les années suivantes (fig. 13).

D'après ces auteurs ce phénomène, observé à partir de radiographies et appelé « cratérisation péri-implantaire », est physiologique. Les valeurs de perte osseuse citées précédemment constituent à cette époque les valeurs maximales pour lesquelles le traitement implantaire reste considéré comme un succès. Ces valeurs sont encore considérées comme acceptables aujourd'hui.



**Fig. 13** A gauche : radiographie d'un implant deux-parts mis en nourrice, à l'issue de la cicatrisation. A droite : radiographie du même implant en fonction un an plus tard. La situation est cliniquement saine, la radiographie rétro-alvéolaire montre une résorption osseuse atteignant la première spire de l'implant. Le niveau osseux initial est indiqué en jaune (Szmukler-Moncler *et al.* 2008).

Cette perte osseuse péri-implantaire est tridimensionnelle (fig. 14). Ce phénomène n'est pas pathologique mais la migration apicale de l'attache muqueuse qui en résulte peut avoir pour conséquence indésirable la formation d'une récession vestibulaire ou une perte de papille au niveau interproximal (Tarnow *et al.* 1992).



**Fig. 14** Schémas illustrant le phénomène de cratérisation péri-implantaire. A gauche, vue vestibulaire, à droite, vue occlusale. La perte osseuse a une dimension verticale et horizontale (Zuhr et Hürzeler 2013).

Un grand nombre d'études ont été conduites pour analyser ce phénomène et mettre en évidence les facteurs étiologiques de cette perte osseuse péri-implantaire. Il ressort que de manière générale, dans un contexte de santé parodontale, toute agression bactérienne ou mécanique portant atteinte localement à l'intégrité de l'attache muqueuse péri-implantaire ou de l'os crestal entraîne un remaniement de la structure tissulaire en direction apicale à distance de la zone d'agression. Ce remodelage correspond donc à un phénomène adaptatif ponctuel dans un contexte de santé des tissus péri-implantaires. Après cette réorganisation tissulaire, les tissus sont à nouveau protégés et restent à un niveau constant.

Différents facteurs étiologiques sont incriminés dans le phénomène de cratérisation :

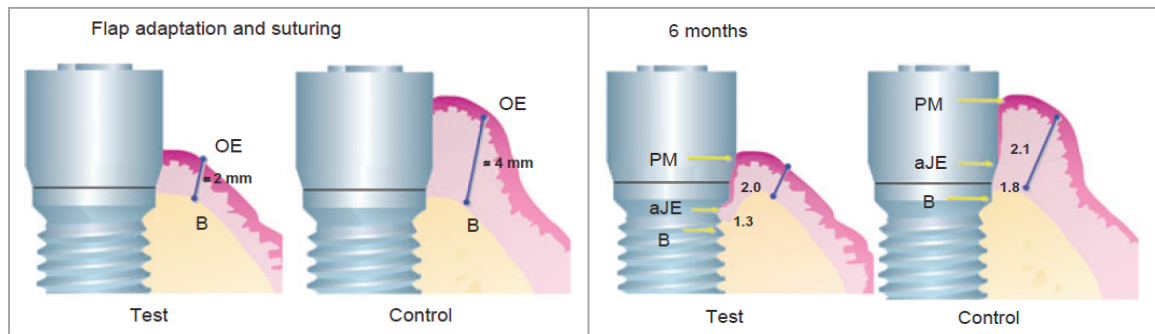
- la mise en place de l'espace biologique,
- une infiltration bactérienne à la jonction implant-pilier,
- une agression mécanique des tissus à la jonction implant-pilier,
- un traumatisme tissulaire au cours de la chirurgie implantaire,
- une retransmission excessive des contraintes occlusales au niveau du col de l'implant en relation avec l'os marginal après la mise en place de la prothèse.

Ces facteurs interviennent à différents moments du traitement implantaire : après la mise en place de la vis de cicatrisation, au cours de la réalisation de la prothèse et après la mise en charge. Selon une étude clinique réalisée par Astrand *et al.* (1999, 2004) le remodelage osseux péri-implantaire qui intervient suite à la pose de la prothèse serait négligeable.

### 1.2.2 Facteurs étiologiques du remodelage osseux marginal péri-implantaire

#### *Mise en place de l'espace biologique*

Berglundh et Lindhe (1996), dans une étude histologique chez le chien, ont comparé la cicatrisation de la muqueuse autour d'implants deux-parts positionnés dans des sites présentant une muqueuse amincie chirurgicalement (< 2 mm) avec celle de sites témoins présentant une muqueuse d'épaisseur normale (fig. 15). Après 6 mois de cicatrisation, les hauteurs d'épithélium de jonction et de tissu conjonctif sont comparables dans les deux groupes. En revanche, au niveau des sites présentant une muqueuse péri-implantaire affinée, une résorption osseuse marginale angulaire s'est produite au cours de la cicatrisation. Selon les auteurs, une certaine hauteur de tissu mou, appelée « espace biologique péri-implantaire », est nécessaire pour permettre l'attache de la muqueuse péri-implantaire. Une résorption osseuse se produit pendant la cicatrisation s'il est nécessaire de restaurer cet espace.

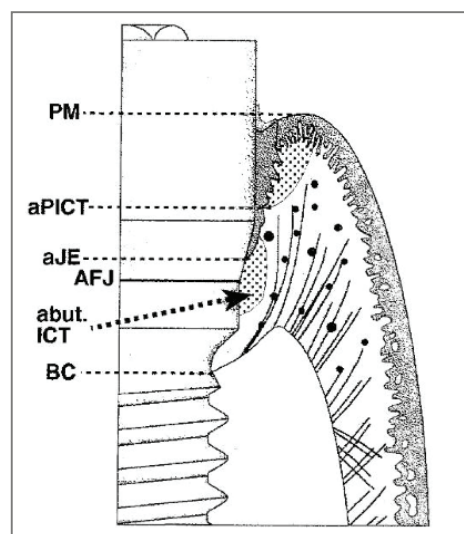


**Fig. 15** Représentation schématique du protocole opératoire et des résultats de l'étude menée par Berglundh *et al.* (1996). A gauche : dans le groupe test, l'épaisseur de la muqueuse est réduite lors de la chirurgie. A droite : après 6 mois de cicatrisation, une résorption osseuse s'est produite dans le groupe test. Dans Lindhe *et al.* 2008.

### Contamination bactérienne de la jonction implant-pilier

Ericsson *et al.* (1996) ont mis en évidence un infiltrat inflammatoire dans la zone de la jonction implant-pilier. Il s'étend de 0,5 mm coronairement, apicalement et latéralement (fig. 16). Une bande de tissu conjonctif sain d'environ 0,8 mm d'épaisseur est retrouvé de manière systématique entre l'os et cet infiltrat et le contact os-implant le plus coronaire est localisé 1,1 à 1,3 mm apicalement à la jonction implant-pilier. Les auteurs ont associé cet infiltrat inflammatoire à la présence d'un hiatus à la jonction implant-pilier.

Cet infiltrat n'est pas retrouvé en l'absence d'interface, autrement dit autour d'implants une-part (Broggini *et al.* 2003) et l'intensité de la réaction inflammatoire observée est corrélée à la proximité de l'os par rapport à la jonction implant-pilier et également corrélée à l'importance de la perte osseuse (Broggini *et al.* 2006).



**Fig.16** Représentation schématique de l'infiltrat inflammatoire du pilier (ICT) localisé à la jonction implant-pilier (AFJ) d'un implant deux-parts (Ericsson *et al.* 1996).

La contamination bactérienne peut être issue de deux phénomènes. D'une part, le micro-hiatus s'il est de taille suffisante autorise le passage des bactéries à l'intérieur de l'implant. D'autre part, s'il est de taille insuffisante, une erreur d'asepsie lors de la mise en place des composants supra-implantaires contamine l'intérieur de l'implant, et les produits pathogéniques bactériens, de taille inférieure, diffusent à travers le hiatus. Le développement des bactéries à l'intérieur de l'implant et le relargage de produits pathologiques au niveau du micro-hiatus entraîne une agression continue à laquelle l'hôte répond par le recrutement de cellules inflammatoires.

#### *Agression mécanique à la jonction implant-pilier*

- *Agression mécanique liée aux manipulations prothétiques*

Lors de l'utilisation d'implant deux-parts, des manipulations prothétiques répétées, liées au vissage et au dévissage de la vis de cicatrisation, du transfert d'empreinte et du pilier implantaire entraîneraient l'arrachement mécanique de l'attache (implants *Brånemark*). Selon le principe de conservation de l'espace biologique, une lyse osseuse serait induite sur le pourtour de l'implant afin de permettre une translation apicale de l'attache à distance de la zone d'agression (Abrahamsson *et al.* 1997). Une étude réalisée plus récemment (implants à connectique cône morse) par les mêmes auteurs rapporte cependant qu'une simple opération de vissage-dévissage est possible sans aggraver l'espace biologique au point qu'une lyse osseuse en découle (Abrahamsson *et al.* 2003).

- *Micro-mouvements du pilier implantaire*

Une célèbre étude *in vitro* a observé l'effet de l'application d'une force de 200 N en flexion sur la jonction implant-pilier de différents systèmes implantaires à l'aide d'une caméra numérique radiographique. Les résultats ont montré qu'en présence de forces masticatoires simulées le joint implant-pilier des connectiques externes et internes des systèmes : SIC® ; Replace Select® ; Camlog® ; XIVE® ; Straumann synOcta® ; Bego-Semados® ; Straumann massive conical abutment® n'est pas étanche et tolère des micro-mouvements du pilier par rapport à l'implant, ouvrant l'espace entre l'implant et le pilier. En revanche, les connectiques internes de type cône morse des systèmes Ankylos® et Astra Tech® sont parfaitement stables et n'autorisent pas de micro-mouvement (Zipprich *et al.* 2007).

Les micro-mouvements à la jonction implant-pilier entraînent une agression mécanique au niveau de l'attache de la muqueuse péri-implantaire. Ils potentialisent également le passage et le développement de bactéries à l'intérieur de l'implant. En retour, « l'effet de pompe » causé par les micro-mouvements provoque une contamination de l'os crétal par le liquide contenu à l'intérieur de l'implant.

### *Traumatisme chirurgical*

- *Elévation du lambeau*

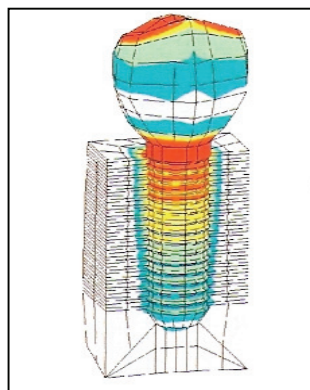
L'os cortical reçoit sa vascularisation par le biais de l'os trabéculaire et du périoste. Le décollement d'un lambeau muco-périosté sépare le périoste de l'os. Il en résulte une résorption osseuse du fait de l'interruption temporaire de la vascularisation (Pennel 1967).

- *Traumatisme de l'os marginal*

Un échauffement lors de la préparation du lit receveur ou une compression excessive au niveau de l'os marginal (souvent plus corticalisé) lors de la pose de l'implant entraîne un traumatisme tissulaire conduisant à la formation d'un défaut osseux marginal péri-implantaire (Bert 1994, Misch *et al.* 1999). Dans les cas extrêmes le traumatisme chirurgical peut conduire à l'échec de l'ostéointégration.

### *Transmission des contraintes occlusales à l'os marginal*

Les forces masticatoires exercent des contraintes en traction, cisaillement et compression au niveau de la structure implantaire qui sont ensuite retransmises à l'os et peuvent entraîner un remodelage osseux marginal après la mise en charge de l'implant (Misch *et al.* 1999). De nombreuses études en éléments finis ont montré que l'état de surface du col, la présence de micro-éléments de rétention, le type de connectique implantaire, l'enfouissement de l'implant par rapport à la crête osseuse, le diamètre et la longueur de l'implant, la taille du pilier par rapport à l'implant, la forme de l'implant sont autant de facteurs qui conditionnent la répartition des contraintes au niveau du fût implantaire et la concentration éventuelle de ces contraintes au niveau de l'os marginal (fig. 17) (Hansson *et al.* 1999, 2000, 2003, 2009, Huang *et al.* 2007, Chou *et al.* 2010, Bozkaya *et al.* 2003 ).



**Fig. 17** Modélisation de l'effet de l'application de forces masticatoires sur une couronne unitaire supportée par un implant deux-parts cylindrique à connectique hexagone : les contraintes sont concentrées au niveau de la jonction implant-pilier et retransmises à l'os marginal (Renouart et Rangert 2005).

## **II / INFLUENCE DE LA CONCEPTION IMPLANTAIRE SUR LE NIVEAU DE L'OS MARGINAL ET LES CARACTERISTIQUES DE LA MUQUEUSE AU STADE PRECOCE**

---

La configuration implantaire a été identifiée dans le paragraphe I comme étant un des facteurs influençant l'intégration des tissus péri-implantaires au niveau du col de l'implant lors de la cicatrisation. Une synthèse des données histologiques concernant l'influence de la conception implantaire sur les remodelages tissulaires marginaux intervenant au cours de la cicatrisation est présentée dans ce paragraphe.

Les études citées ci-après sont des études histologiques réalisées essentiellement chez le Beagle. Les implants sont positionnés dans des crêtes édentées cicatrisées en l'absence de mise en charge, avec un protocole de contrôle de plaque, et les données sont rapportées par les auteurs à l'issue de la période de cicatrisation. Seules les modalités particulières (biopsies humaines, mise en charge, interruption du contrôle de plaque, etc..) font l'objet de précisions.

Le terme « perte osseuse crestale » désigne la distance entre le sommet de la crête osseuse et le contact os-implant le plus coronaire ; « perte osseuse marginale » la distance entre l'épaule de l'implant et le contact os-implant le plus coronaire ; tandis que « espace biologique » et « hauteur de la muqueuse péri-implantaire » sont utilisés pour désigner la mesure verticale des tissus mous péri-implantaires en fonction de la terminologie adoptée par les auteurs dans la littérature.

### **II.1 Implants « une-part » versus implants « deux-parts »**

La configuration des implants varie selon les systèmes implantaires. Les implants une-part présentent un col transmuqueux, en continuité avec la portion endo-osseuse de l'implant. Les implants « deux-parts » présentent une interface entre l'implant et le pilier au niveau de la crête osseuse (fig. 20 p.35).

Les études de Hermann *et al.* (1997, 2000-a, 2000-b, 2001-a) constituent un travail princeps qui a posé les bases de la compréhension de l'influence du système implantaire sur les remodelages tissulaires péri-implantaires.

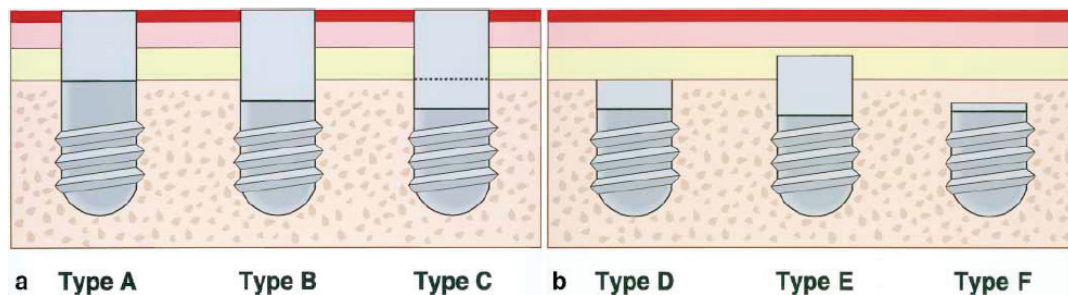
Deux de ces études mettent en lumière l'influence de la position par rapport à la crête osseuse de la jonction implant-pilier des implants deux-parts et de l'état de surface lisse du col implantaire des implants une-part sur les valeurs du remodelage osseux péri-implantaire (Hermann *et al.* 2000-b) et de l'espace biologique (Hermann *et al.* 2001-a).



Six situations cliniques différentes ont été analysées (fig. 18) :

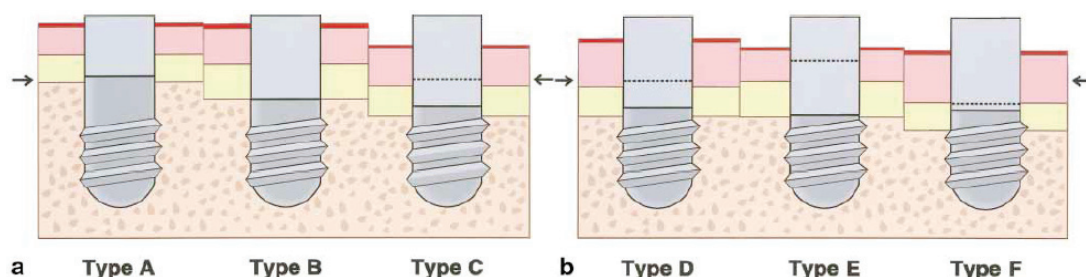
- Groupe A : implants en une partie avec une limite lisse-rugueux placée au niveau crestal,
- Groupe B : implants en une partie avec une limite lisse-rugueux placée 1 mm sous-crestal,
- Groupe C : implants en deux parties non enfouis avec une jonction implant-pilier placée au niveau crestal,
- Groupe D : implants en deux parties enfouis avec une jonction implant-pilier placée au niveau crestal,
- Groupe E : implants en deux parties enfouis avec une jonction implant-pilier placée 1 mm au-dessus de la crête,
- Groupe F : implants en deux parties enfouis avec une jonction implant-pilier placée 1 mm en dessous de la crête.

Pour les groupes C, D, E, F, la limite lisse-rugueux est située 1,5 mm sous la crête osseuse. A la jonction implant-pilier des implants deux-parts le micro-gap est de 50  $\mu$ m.



**Fig. 18** Schéma du protocole opératoire des études de Hermann *et al.* (2000-b, 2001-a). Le trait noir épais détermine la limite entre l'état de surface lisse et rugueux, le trait pointillé illustre la présence d'un micro-gap.

Après 3 mois, les vis de cicatrisation des groupes D, E et F ont été positionnées. Après un nouveau délai de cicatrisation de 3 mois, des biopsies ont été réalisées pour les 6 groupes afin d'analyser la position des tissus péri-implantaires. Les résultats sont illustrés dans la figure 19.



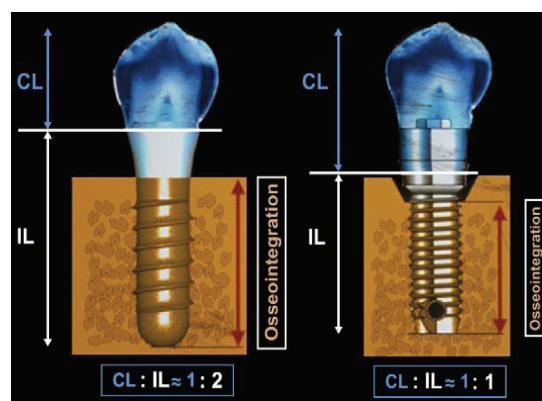
**Fig. 19** Représentation schématique de la position des tissus muqueux et osseux autour des différents groupes d'implants à l'issue de la période de cicatrisation. Les flèches indiquent la position de l'os crestal au moment de la pose des implants (Hermann *et al.* 2001-a).

### II.1.1 Position du contact os-implant le plus coronaire

Selon Hermann *et al.* (2000-b) :

- Autour des implants une-part, la perte osseuse marginale est pratiquement inexistante lorsque la limite lisse-rugueux est positionnée au niveau crestal ou en supra-crestal (groupe A),
- Le placement sous-crestal de la limite lisse-rugueux d'implants une-part (groupe B) entraîne une perte osseuse marginale,
- La présence de la jonction implant-pilier au niveau de la crête osseuse est associée à une résorption osseuse marginale de 1,5 mm par rapport au col de l'implant dans le mois suivant la mise en place de la vis de cicatrisation (groupe C et D),
- La localisation du contact os-implant le plus coronaire est conditionnée par la position de la limite lisse-rugueux lorsque la jonction implant-pilier est placée 1 mm au dessus, donc à distance, de la crête osseuse (groupe E),
- La localisation du contact os-implant le plus coronaire n'est pas conditionnée par la position de la limite lisse-rugueux lorsque la jonction implant-pilier est placée en relation avec la crête osseuse (groupe F) : une résorption osseuse de 1,5 mm est observée,
- Un enfouissement de la jonction-implant pilier en sous-crestal a pour conséquence d'augmenter la perte osseuse crestale (groupe F) de la valeur de l'enfouissement (pour un enfouissement de 1 mm, la perte osseuse marginale reste de 1,5 mm, la perte osseuse crestale est de 2,5 mm).

D'après les résultats de cette étude, le niveau coronaire du contact os-implant est conditionné par la position en regard de la crête osseuse de la limite lisse-rugueux pour les implants une-part et de la jonction implant-pilier pour les implants deux-parts (fig. 20).



**Fig. 20** Schéma de la perte osseuse observée autour des implants deux-parts (à droite). Autour des implants une-part (à gauche) dont la jonction implant-pilier est supra-crestale la perte osseuse est minime lorsque la limite lisse-rugueux est positionnée au niveau crestal. La jonction implant-pilier est représentée par le trait blanc (Jones et Cochran 2006).



En 2011, les mêmes auteurs ont observé dans une nouvelle étude qu'un placement supra-crestal de la limite lisse-rugueux d'implants une-part a pour conséquence un gain osseux de l'ordre de 0,15 mm (Hermann *et al.* 2011).

Welander *et al.* (2009) ont étudié chez le chien l'influence de l'état de surface de l'épaupe, de la plateforme et du pilier implantaire lors du placement sous-crestal d'implants deux-parts à connectique cône morse (ce type de connectique est très ajusté et supprime la colonisation bactérienne au niveau de la jonction implant-pilier, cet aspect est détaillé dans le paragraphe II.2.3 de cette partie). Il apparaît que le contact os-implant s'établit à un niveau plus coronaire lorsque l'état de surface des composants implantaires est rugueux. Ces résultats vont dans le sens de ceux de Hermann *et al.* (2000-b) : en l'absence d'infiltration bactérienne en relation avec la crête osseuse, le contact os-implant le plus coronaire se positionne au niveau de la limite lisse-rugueux autour des implants deux-parts également (groupe E).

La présence de micro-spires associée à l'état de surface rugueux au niveau de la partie endosseuse du col d'implants deux-parts pourrait également favoriser le maintien de l'os péri-implantaire à un niveau plus coronaire (Abrahamsson et Berglundh 2006) en améliorant la distribution des forces autour de l'implant.

#### II.1.2 Valeur de l'espace biologique

Selon Hermann *et al.* (2001-a) :

- La gencive marginale est toujours localisée plus coronairement autour des implants une-part et la dimension verticale de l'espace biologique des implants une-part est plus proche des dimensions de l'espace biologique des dents que celle des implants deux-parts (2,8 mm versus 3,4 mm) en technique enfouie et non enfouie (groupes A, C, D),
- Un enfouissement de la limite lisse-rugueux des implants une-part (groupe B) a pour conséquence une augmentation de la hauteur de l'espace biologique (augmentation moyenne de 0,73 mm) par augmentation de l'épithélium de jonction (de 0,41 mm en moyenne) et du tissu conjonctif (de 0,34 mm en moyenne). Le niveau coronaire de la gencive marginale n'est pas modifié du fait de l'enfouissement des implants une-part,
- Un enfouissement de la jonction implant-pilier des implants deux-parts a pour conséquence une rétraction de la gencive marginale et une augmentation de l'espace biologique par augmentation de l'épithélium de jonction (groupes C, D, F).

Selon ces auteurs, l'infiltration bactérienne au niveau du micro-gap à la jonction implant-pilier des implants deux-parts entraîne un processus inflammatoire responsable d'une migration de l'extrémité de l'épithélium de jonction apicalement à la jonction implant-pilier et d'une perte osseuse marginale ayant pour conséquence un allongement de l'espace biologique et éventuellement la formation d'une récession tissulaire marginale.

Ces résultats sont en adéquation avec ceux de Weber *et al.* (1996) selon lesquels autour des implants deux-parts, la base de l'épithélium de jonction est localisée apicalement à la jonction implant-pilier et l'attache péri-implantaire est toujours localisée plus apicalement en comparaison avec des implants une-part.

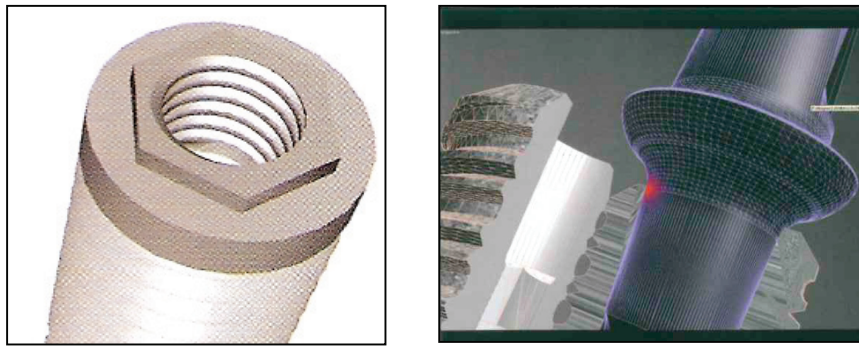
## **II.2 Influence du type de connectique implantaire (implants deux-parts)**

### II.2.1 Evolution de la configuration des connectiques implantaires

Les implants deux-parts utilisés dans les premières études cliniques et histologiques évaluant le phénomène de cratérisation et l'espace biologique péri-implantaire sont des implants *Brånemark* cylindriques à connectique hexagonale externe (fig. 21). La surface prothétique de cet implant possède une forme de plateau surmontée en son centre d'un hexagone externe et associé à un pas de vis central. Le pilier est emboîté sur l'hexagone, il est vissé à l'aide d'une vis en or ou en titane. C'est uniquement cette vis de transfixation qui assure la stabilité du système. Les possibilités de micro-mouvements sont liées à la rigidité de cette vis. Ce type de connectique autorise un micro-hiatus d'environ 30 µm entre l'implant et le pilier.

Des connectiques hexagones internes ont ensuite été développées (fig. 21) ; la friction du pilier dans l'implant diminue les possibilités de micro-mouvements et d'infiltrations bactériennes. Ces connectiques n'étaient pas proposées au début de l'implantologie car l'épaisseur des murs qu'elles laissaient subsister (inférieure à 0,5 mm) au niveau du corps de l'implant était trop faible et entraînait des risques de fracture. Ces connectiques étaient incompatibles avec les propriétés mécaniques du titane de grade 1 ou 2 alors employé. L'utilisation des connectiques internes a été généralisée lorsque d'autres matériaux tels que le titane de grade 4 ou 5, présentant de meilleures propriétés mécaniques ont été utilisés pour la conception des implants.

Une configuration particulière de connectique interne, le cône morse, crée par l'emboîtement de deux cônes normalisés, augmente la surface de contact et la friction entre l'implant et le pilier par rapport aux connectiques externes et internes classiques à emboîtement parallèle ou « à joint plat ». Cette connectique établit une soudure à froid entre le pilier implantaire et l'implant qui réduit les possibilités de contamination et de micro-mouvements. Elle présente également l'intérêt d'autoriser, par sa configuration, un retrait implant-pilier qui permettrait l'établissement de l'espace biologique : le cône morse est donc un cas particulier de platform-switching (cf paragraphe II.3).



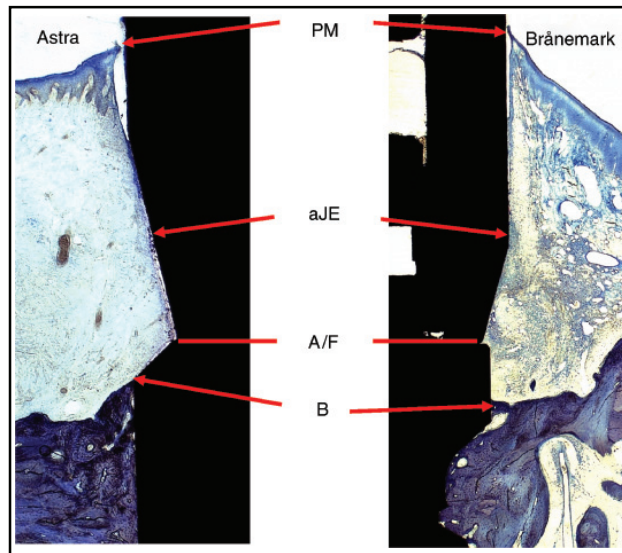
**Fig. 21** Différents types de connectiques implantaies. A gauche : schéma d'un hexagone externe vu de dessus (Jakubowicz-Kohen *et al.* 2008). A droite : représentation de l'emboîtement d'un cône morse (Schneck et Chapotat 2011).

### II.2.2 Influence de la taille du micro-gap sur la résorption osseuse marginale

Plusieurs études ont été menées dans le but d'étudier l'influence de la taille du micro-gap et des possibilités de micro-mouvements sur la résorption osseuse autour des implants deux-parts. Les premières études réalisées chez le Beagle par Hermann *et al.* (1997, 2000-b) rapportent un remodelage osseux très important en relation avec la jonction implant-pilier d'implants deux-parts. Dans ces études, la taille du micro-gap entre l'implant et le pilier est de 50  $\mu\text{m}$ . A titre de comparaison, la taille de *Porphyromonas gingivalis*, bactérie incriminée dans la maladie parodontale est de 1  $\mu\text{m}$ . King *et al.* (2002) et Hermann *et al.* (2001-b) ont évalué, aux stades initiaux de cicatrisation et sans mise en charge, l'influence de la taille et de la localisation par rapport à la crête osseuse de micro-gaps de taille 10  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  sur la perte osseuse marginale et crestale. Selon ces études, la taille du micro-gap en rapport avec la crête osseuse n'influe pas sur la quantité de résorption osseuse au stade de la mise en fonction. En revanche, la résorption osseuse est toujours plus faible en l'absence de micro-gap. Les auteurs attribuent la perte osseuse à la possibilité de micro-mouvements entre le pilier et l'implant et non pas à la taille du micro-gap.

### II.2.3 Intérêt du cône morse pour limiter la perte osseuse marginale

En 2005, Berglundh *et al.* ont examiné radiographiquement et histologiquement l'évolution du niveau osseux avant et après mise en charge autour d'implants deux-parts à connectique hexagone externe et à connectique cône morse. Il ressort de cette évaluation, qu'avant la mise en charge, la perte osseuse observée autour des implants à connectique cône est de 0,07 mm en moyenne et celle observée autour des implants à connectique hexagone externe est de 0,80 mm (fig. 22). La connectique conique utilisée dans cette étude a été caractérisée dans deux publications : elle présente un micro-gap de 1 à 2  $\mu\text{m}$  (Jansen *et al.* 1997), elle est rigide et n'autorise pas de micro-mouvement sous l'effet de forces de mastications simulées (Zipprich *et al.* 2007).



**Fig. 22** L'os est présent à proximité du col implantaire de l'implant AstraTech Implants® Dental System (à gauche), il est à distance du col de l'implant Brånemark System®, Nobel Biocare (à droite). Section vestibulo-linguale, coupe non décalcifiée, coloration bleu de toluidine (Berglundh *et al.* 2005).

Selon Noaves *et al.* 2009 et Jung *et al.* en 2008, autour des implants deux-parts à connectique cône morse la perte osseuse est très limitée en comparaison des résultats de la littérature pour les implants deux-parts à connectique hexagonale externe.

Selon l'étude précédemment citée de Welander *et al.* (2009), le contact os-implant peut s'établir coronairement à la jonction implant-pilier lors du placement sous-crestal d'implants deux-parts en présence d'une connectique étanche et d'une surface rugueuse de la plateforme et du pilier. Dans 40% des cas, autour des implants à surface rugueuse, le premier contact os-implant est localisé coronairement à la jonction implant-pilier. Cette étude est la première étude de la littérature rapportant une ostéointégration coronaire à la jonction implant-pilier autour d'implants deux-parts.

Selon Berglundh *et al.* (2005), Weng *et al.* (2008, 2010, 2011), Heitz-Mayfield *et al.* (2013), Castro *et al.* (2014) la perte osseuse marginale est généralement moins importante en présence d'une connectique cône morse que d'une connectique hexagonale externe.

#### II.2.4 Influence de la connectique implantaire sur la valeur de l'espace biologique

Peu d'éléments sont retrouvés dans la littérature sur l'influence de la connectique sur les dimensions de la muqueuse péri-implantaire.

L'étude réalisée par Berglundh *et al.* en 2005, rapporte que la hauteur de la muqueuse implantaire est réduite autour d'implants à connectique cône morse en comparaison avec des implants à connectique

hexagone externe (3,62 versus 4,28mm). Ces résultats sont corrélés à la perte osseuse marginale réduite autour des implants à connectique conique.

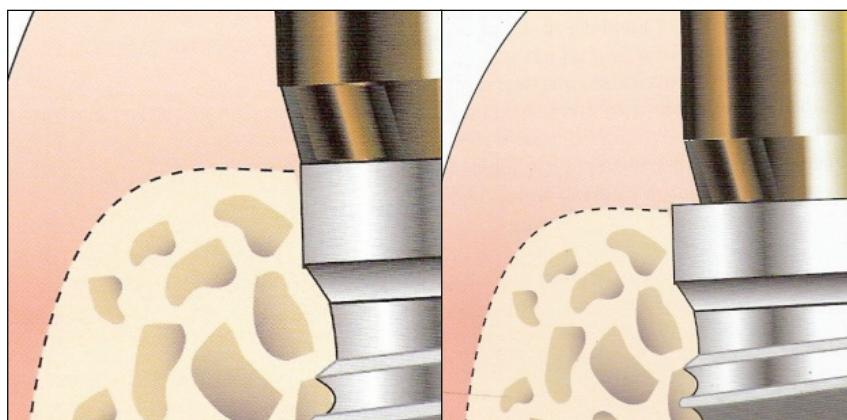
Les résultats de l'étude menée par Pontes *et al.* (2008) montrent que l'enfouissement d'implants deux-parts à connectique hexagone interne a pour conséquence une augmentation des valeurs de l'espace biologique par allongement du tissu conjonctif tandis que les valeurs de l'étage épithélial restent stables.

Cochran *et al.* 2013, ont observé autour d'implants deux-parts à connectique interne synOcta® un allongement de l'espace biologique lors du positionnement sous-crestal des implants qui se produit essentiellement par une augmentation du compartiment épithélial. Les auteurs observent néanmoins que l'extrémité apicale de l'épithélium de jonction reste coronaire à la jonction implant-pilier. Ils attribuent ce résultat à l'absence d'inflammation au niveau de la jonction implant-pilier du fait de l'étanchéité de la connectique à la contamination bactérienne (Dibart *al.* 2005) et concluent sur un changement fondamental dans la réaction biologique au niveau de l'interface implant-pilier des implants deux-parts.

L'utilisation d'une connectique conique rigide et étanche permettrait donc de réduire ou de supprimer la contamination bactérienne et de ce fait l'inflammation des tissus en relation avec la jonction implant-pilier des implants deux-parts. Ceci aurait pour conséquence de réduire la perte osseuse marginale, de diminuer la hauteur de l'espace biologique en évitant la migration de l'extrémité de l'épithélium de jonction apicalement à la jonction implant-pilier.

### II.3 Influence du platform-switching (implants deux-parts)

Il y a quelques années, Lazarra et Porter (2006) ont présenté le concept du platform-switching qui correspond à un retrait de la jonction implant-pilier (fig. 23) : le pilier est plus étroit que l'implant.



**Fig. 23** Principe du platform-switching. Sur le schéma de gauche : joint implant-pilier classique en bout à bout. Sur le schéma de droite : décalage en retrait du joint implant-pilier (Davaparnah *et al.* 2008).

Ces auteurs ont élaboré ce concept d'après le suivi radiographique du niveau osseux péri-implantaire d'implants restaurés avec des piliers de plus faible diamètre pendant 13 ans. Ils ont observé que les implants avec platform-switching présentaient une résorption osseuse plus faible que les implants restaurés de manière conventionnelle. Ils ont suggéré que le retrait de la jonction implant-pilier permettrait d'éloigner de l'os la zone faisant le siège d'une infiltration bactérienne et de micro-mouvements, que l'espace biologique pourrait se mettre en place de manière horizontale le long du retrait implant-pilier, et que la perte osseuse marginale serait de ce fait réduite.

Selon Luongo *et al.* (2008) en présence d'un platform-switching, l'infiltrat inflammatoire au niveau du tissu conjonctif est localisé sur la plateforme de l'implant et s'étend 0,35 mm coronairement à la jonction implant-pilier le long de la vis de cicatrisation. A titre de comparaison, l'infiltrat inflammatoire mis en évidence par Ericsson *et al.* (1996) et Broggin *et al.* (2006) autour d'implants *Brånemark* s'étend apicalement et coronairement à la jonction implant-pilier sur une hauteur de respectivement 0,75 et 0,5 mm. Le platform-switching permettrait de mettre à distance l'infiltrat inflammatoire de l'os marginal.

### II.3.1 Influence du platform-switching sur la position du contact os-implant le plus coronaire

Les remodelages de l'os marginal autour d'implants avec platform-switching ont été largement étudiés dans la littérature ces dernières années. Différentes études histologiques rapportent de faibles valeurs de perte osseuse et même une reformation osseuse au niveau de la plateforme implantaire sur certaines biopsies (Berglundh *et al.* 2005, Welander *et al.* 2009, Weng *et al.* 2008, Cochran *et al.* 2009, Finelle *et al.* 2014); d'autres travaux rapportent une perte osseuse modérée en comparaison avec des configurations implant-pilier classiques (Jung *et al.* 2008, Noaves *et al.* 2009, Weng *et al.* 2010, Barros *et al.* 2010, Weng *et al.* 2011, Baffone *et al.* 2012, Farronato *et al.* 2012, Heitz-Mayfield *et al.* 2013, Castro *et al.* 2014) ; alors que certaines études ne montrent pas d'intérêt spécifique du platform-switching (Becker *et al.* 2007, Becker *et al.* 2009, Baffone *et al.* 2011).

La grande hétérogénéité entre la configuration transmuqueuse des implants (connectiques, plateformes, états de surface) et les protocoles opératoires rend difficile l'analyse des résultats. Becker *et al.* en 2007, 2009 ont comparé à 28 jours et 24 semaines post-implantation la localisation de l'os par rapport au col implantaire avec et sans platform-switching. Les auteurs concluent que la localisation du premier contact osseux n'est pas significativement différente entre les 2 groupes et que le platform-switching ne semble pas jouer un rôle crucial dans le maintien du tissu osseux aux stades initiaux de cicatrisation. Cependant, le protocole de cette étude n'est pas conçu de manière à pouvoir véritablement évaluer l'intérêt du platform-switching : dans ces deux études la jonction implant-pilier est positionné 0,4 mm au dessus de la crête osseuse, ce qui minimise l'intérêt du platform-switching en éloignant la jonction implant-pilier et donc la zone d'agression de la crête osseuse.



Il apparaît de manière évidente que ce n'est pas uniquement le décalage implant-pilier qui influe sur la perte osseuse marginale mais que d'autres paramètres dans la configuration implant-pilier entrent en compte.

L'analyse de ces études confirme d'une part que l'utilisation de connectiques de type cône morse avec une adaptation étanche joue un rôle crucial dans la réduction de l'inflammation et de la perte osseuse qui en découle (Berglundh *et al.* 2005, Weng *et al.* 2008, Jung *et al.* 2008, Cochran *et al.* 2009, Weng *et al.* 2010, Weng *et al.* 2011, Heitz-Mayfield *et al.* 2013, Castro *et al.* 2014) mais également que la reformation osseuse sur la plateforme implantaire proche de la jonction implant-pilier des implants deux-parts dépend de l'état de surface du col, de la plateforme et du pilier implantaire selon l'étude préalablement citée de Welander *et al.* en 2009.

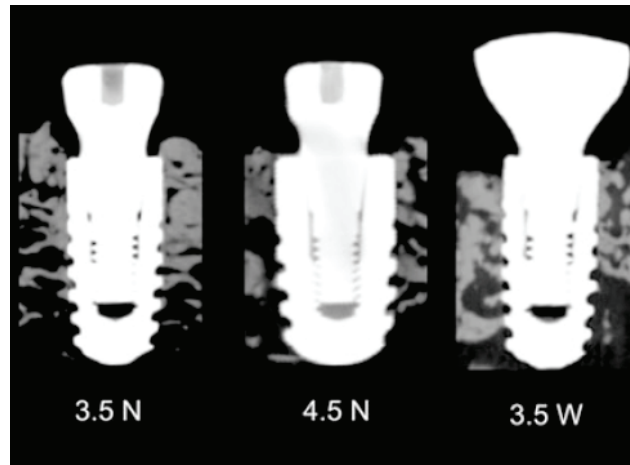
La quantité de perte osseuse marginale apparaît être inversement liée à l'extension du retrait implant-pilier. Selon Baffone *et al.* 2011, un retrait implant-pilier de 0,25 mm ne permet pas d'observer de différence de perte osseuse autour d'implants avec platform-switching comparé à des configurations implant-pilier classiques, après 4 mois de cicatrisation chez le chien ; tandis qu'un retrait de 0,85 mm (fig. 24) permet d'obtenir un contact os-implant plus coronaire (Baffone *et al.* 2012).



**Fig. 24** Représentation schématique du retrait implant-pilier de 0,85 mm mis en place dans l'étude de Baffone *et al.* (2012).

Selon Finelle *et al.* 2014, le facteur influençant le remodelage osseux marginal ne serait pas la largeur du décalage implant-pilier mais l'évasement du composant transmuqueux. La résorption est moins importante autour d'implants avec platform-switching présentant une vis de cicatrisation étroite par rapport à une vis plus évasée, et ce pour une même largeur de décalage implant-pilier (fig. 25).

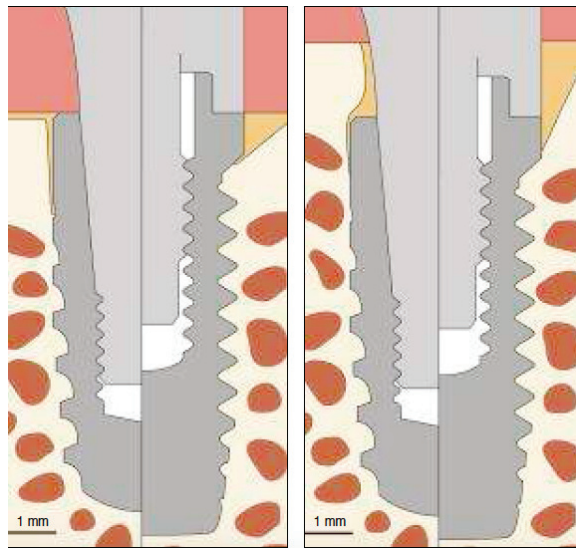




**Fig. 25** Sections mésio-distales réalisées en microtomographie numérisée : 3.5N (N pour “narrow”) : implant de 3,5 mm de large avec une vis de cicatrisation étroite, 4.5N : implant de 4,5 mm avec la même vis de cicatrisation étroite, 3.5W (W pour “wide”) : implant de 3,5 mm avec une vis de cicatrisation évasée. L’augmentation de la largeur du retrait implant-pilier entre les groupes 3.5N et 4.5N n’a pas de conséquence sur la position du contact os-implant le plus coronaire. En revanche l’évasement de la vis de cicatrisation pour une même valeur de retrait implant-pilier (comparaison des groupes 3.5N et 3.5W) influe négativement sur la position de l’os marginal (Finelle *et al.* 2014).

Le dernier paramètre est la position apico-coronaire des implants par rapport à la crête osseuse. Il est acquis que la perte osseuse marginale est d’autant plus prononcée que l’implant est enfoui pour les implants deux-parts classiques (Hermann *et al.* 2000-b). En revanche, les résultats de plusieurs études suggèrent qu’un placement sous-crestal (1.5 mm) d’implants à connectique cône morse pourrait être plus efficace dans la préservation de l’os marginal péri-implantaire en comparaison d’un placement juxta-crestal (Weng *et al.* 2008, Noaves *et al.* 2009, Weng *et al.* 2010, Barros *et al.* 2010, Castro *et al.* 2014). Les auteurs expliquent ce phénomène par le fait que l’os “accepte” l’espace offert par le retrait implant-pilier et qu’une apposition active se produit dans cet espace vide proche de l’interface implant-pilier (fig. 26). Une autre explication résiderait dans le fait que la pose de l’implant en juxta-crestal génère un stress mécanique important dans l’os très corticalisé peu vascularisé du sommet de la crête qui peut entraîner une perte osseuse marginale. La pose de l’implant sous la corticale décalerait en revanche la distribution du stress mécanique marginal due à la pose de l’implant dans l’os trabéculaire, plus “souple” (Bozkoya *et al.* 2003, Chou *et al.* 2010).

Dans une revue systématique évaluant l’impact du positionnement du micro-gap par rapport à la crête osseuse, Schwartz *et al.* (2014) concluent à une influence certaine de l’enfouissement des implants sur le niveau osseux péri-implantaire. Les auteurs indiquent que malgré la perte osseuse crestale plus prononcée, un positionnement sous-crestal du micro-gap pourrait aider à maintenir le recouvrement de la surface rugueuse du corps et de l’épaule de l’implant par l’os.



**Fig. 26** Schéma de la perte osseuse crestale et marginale autour d'implants à connectique conique et hexagonale externe placés en position juxta-crestale (à gauche) et infra-crestale (à droite). La distance épaule de l'implant/ contact osseux le plus coronaire est la plus faible pour les implants à connectique conique placés en position sous crestale (Weng *et al.* 2010).

La contribution individuelle de ces cinq paramètres (connectique, état de surface, étendue du décalage horizontal, configuration du composant transmuqueux, et enfouissement de l'implant) dans la préservation de l'os marginal par la technique de platform-switching n'est pas encore parfaitement établie et reste à déterminer.

### II.3.2 Influence du platform-switching sur la valeur de l'espace biologique

Dans une moindre mesure, l'influence du platform-switching sur les valeurs de l'espace biologique a également été étudiée.

Becker *et al.* en 2007 ont évalué à 7, 14 et 28 jours post-implantation la localisation de l'épithélium de jonction et du tissu conjonctif par rapport au col implantaire. Dans le groupe test, le pilier de cicatrisation est de diamètre réduit par rapport au col implantaire. Dans le groupe contrôle, le même implant est coiffé d'une vis de cicatrisation de diamètre identique au col. Les auteurs rapportent une localisation plus coronaire de l'épithélium de jonction dans le groupe test, mais des valeurs similaires d'espace biologique entre les deux groupes.

Une seconde étude a été réalisée par la même équipe en 2009 (Becker *et al.* 2009) selon le même protocole pour évaluer les mêmes paramètres à 4, 8, 12 et 24 semaines. Aucune différence entre le groupe contrôle et le groupe test concernant la hauteur de l'espace biologique n'a été mise en évidence dans cette étude. Cependant, à nouveau, la pertinence de ces résultats semble discutable car dans ces deux études la jonction implant-pilier est positionnée 0,4 mm au dessus de la crête

osseuse, ce qui minimise l'intérêt du platform-switching en éloignant de la crête osseuse l'interface implant-pilier.

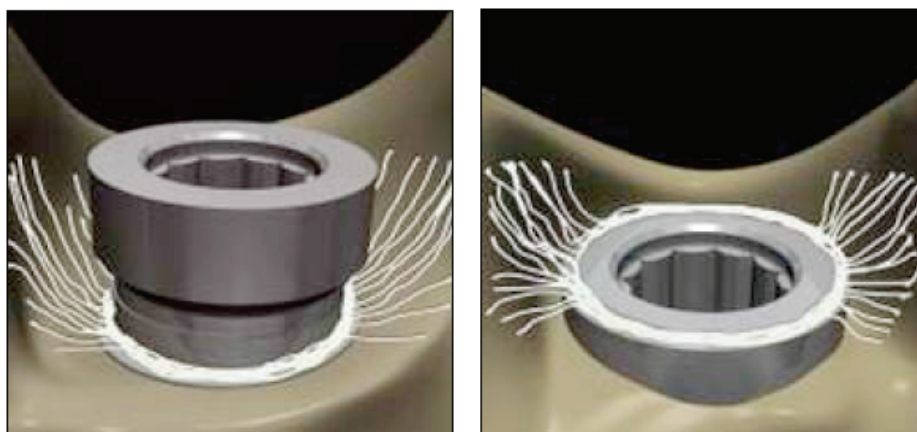
Selon Baffone *et al.* (2011), un retrait implant pilier de 0,25 mm ne permet pas d'observer de différence en terme de hauteur de muqueuse péri-implantaire autour d'implants restaurés selon le concept du platform-switching comparés à des configurations implant-pilier classiques, tandis que la mise en place d'un retrait de 0,85 mm entraîne une réduction de l'espace biologique (Baffone *et al.* 2012).

Farronato *et al.* (2012) ont rapporté des valeurs d'espace biologique plus petites autour d'implants positionnés en juxta-crestal avec platform-switching comparés à des configurations implant-pilier classiques.

Dans ces deux dernières études, la réduction de la dimension de l'espace biologique est associée à un niveau de contact os-implant plus coronaire pour les implants avec platform-switching (Farronato *et al.* 2012, Baffone *et al.* 2012).

### II.3.3 Influence du platform-switching sur l'organisation des fibres de collagène

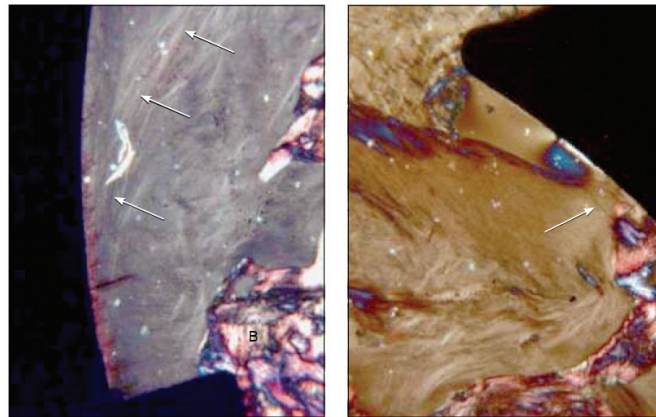
Rodriguez *et al.* (2012) ont décrit des fibres de collagènes orientées perpendiculairement au pilier et organisées de manière circonférentielle au dessus de la plateforme implantaire, dans l'espace créé par le retrait implant-pilier, tandis que cette organisation est retrouvée plus apicalement pour les implants sans platform-switching (fig. 27). Les auteurs suggèrent que le platform-switching pourrait réduire la perte osseuse et servir d'élément mécanique de rétention pour les fibres de collagène.



**Fig. 27** Modélisation de l'organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif autour d'implants sans (à gauche) et avec (à droite) platform-switching (Rodriguez *et al.* 2012).

Degidi *et al.* (2012) ont décrit dans un rapport de cas, concernant 3 implants mis en charge chez l'Homme, la présence de fibres de collagène ancrées latéralement dans la crête osseuse qui se

dirigent perpendiculairement en direction de la surface implantaire jusqu'à une distance de 200  $\mu\text{m}$  de la surface implantaire puis les fibres forment un réseau tridimensionnel autour du pilier (fig. 28).



**Fig. 28** Organisation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif supra-crestal d'un implant à connectique cône morse. A gauche, proche de la surface implantaire, les fibres de collagène sont orientées de manière parallèle-oblique. Plus à distance (à droite), les fibres sont orientées perpendiculairement. Microscopie optique, cutting-grinding, lumière polarisée, coloration bleu de toluidine et fushine basique, grossissement x40 (Degidi *et al.* 2012).

## II.4 Influence de la géométrie du composant transmuqueux

### II.4.1 Influence de la géométrie du col des implants une-part

Rappelons que la configuration une-part a pour intérêt de supprimer l'interface implant-pilier en relation avec la crête osseuse. Un design transmuqueux étroit ménagerait un espace horizontal, une « chambre de cicatrisation » pour la mise en place de l'espace biologique favorisant ainsi le maintien de l'os marginal péri-implantaire (fig. 29). Il favoriserait l'adhésion et l'épaississement de la muqueuse péri-implantaire et renforcerait les propriétés mécaniques de l'attache du tissu conjonctif sur l'implant (Touati *et al.* 2005, Rompen *et al.* 2008). Ce concept a été peu étudié dans la littérature.



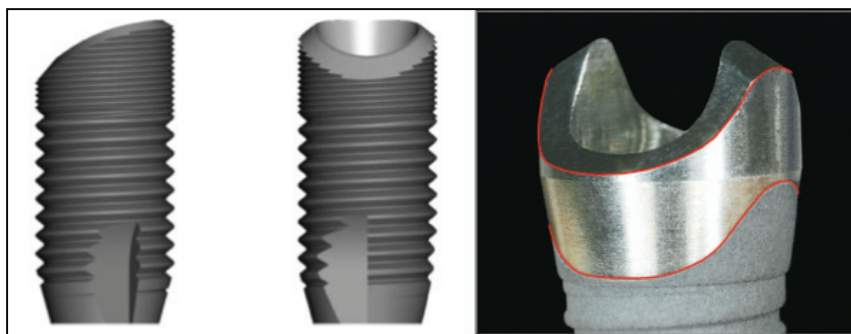
**Fig. 29** Photographies d'implants une-part à différentes géométries de col implantaire. A gauche : profil évasé, au centre : profil concave, à droite : profil droit (Kim *et al.* 2010).

Kim *et al.* en 2010, ont évalué l'influence de différents designs et états de surface implantaire sur les valeurs du remodelage osseux marginal et de l'espace biologique. Trois groupes de cols implantaires ont été testés : un col concave présentant des rainures, un col convexe lisse et un col droit à surface rugueuse (anodisation). Il ressort de cette étude que le col concave avec des rainures permet d'obtenir une perte osseuse minimale avec le contact os-implant le plus coronaire localisé 0,03 mm sous l'épaule de l'implant. Il n'y a pas de différence en ce qui concerne les valeurs verticales des tissus mous qui sont de 2.72 (col droit), 2.91 (col étroit) et 3.04 mm (col évasé). Néanmoins, le groupe à col convexe présente un épithélium beaucoup plus long par rapport au col droit et au col concave. L'implant au col concave avec des rainures présente la plus petite hauteur de tissu conjonctif par rapport aux designs droits et convexes.

Huh *et al.* (2014) ont observé une quantité réduite de perte osseuse autour d'implants à profil transmuqueux concave en comparaison d'implants à profil droit : le contact osseux le plus coronaire est positionné 0,60 mm versus 1,44 mm en dessous de l'épaule implantaire. Les auteurs ont également rapporté de plus faibles hauteurs d'espace biologique sur les implants à profil transmuqueux concave (2.36 mm) comparés aux implants à profil droit (2.88 mm) après 16 semaines de cicatrisation.

Les premières données de la littérature étudiant l'influence de la configuration concave du col des implants une-part vont donc dans le sens d'une réduction des valeurs de l'espace biologique et d'un meilleur maintien de l'os marginal aux stades précoces de cicatrisation en comparaison avec des configurations droites ou évasées classiques.

Des implants "festonnés" ont été développés dans l'idée de suivre le contour naturel de la crête osseuse (fig. 30) et de préserver ainsi "le pic osseux" interproximal dont la présence favorise le maintien de la papille interdentaire (Wörhle *et al.* 2003). Les quelques études histologiques réalisées afin d'évaluer l'intérêt de cette configuration ont montré une bonne préservation de l'os marginal péri-implantaire au niveau interproximal (Choi *et al.* 2010, Abrahamsson *et al.* 2014).

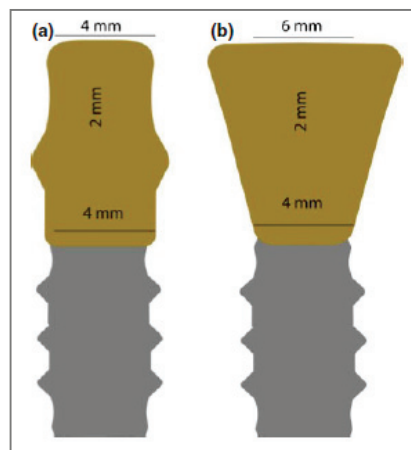


**Fig. 30** A gauche : implant deux-parts festonné (Abrahamsson *et al.* 2014). A droite : implant une-part festonné (Wörhle *et al.* 2003).

#### II.4.2 Influence de la géométrie du pilier des implants deux-parts

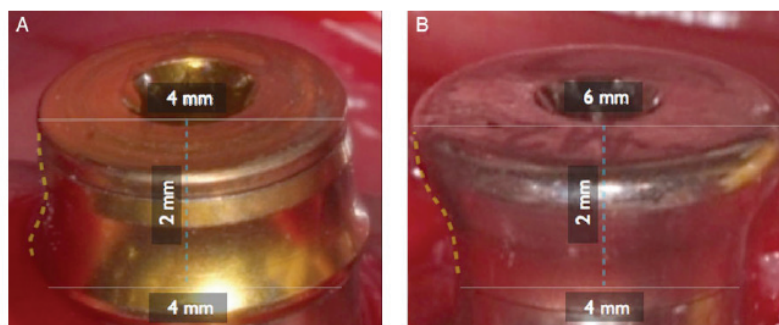
Différentes études se sont intéressées à l'influence d'une concavité du pilier implantaire sur les caractéristiques de la muqueuse. Dans ces études il n'y a pas de retrait net entre l'implant et le pilier : la base du pilier est dans la continuité de celui de l'implant puis s'évase ou se resserre (fig. 31).

López-López *et al.* (2014) ont comparé les effets de piliers de cicatrisation droits et évasés sur le niveau des tissus mous et de l'os péri-implantaire autour d'implants placés dans des alvéoles d'extraction. Il ressort de cette étude que la résorption osseuse et la hauteur de l'étage épithélial sont moins importantes autour des piliers évasés. Les auteurs en concluent que les piliers évasés protègent mieux les tissus mous péri-implantaires, limitant ainsi le remodelage osseux marginal.



**Fig. 31** Schéma des piliers de cicatrisation droits et évasés utilisés dans l'étude de López-López *et al.* (2014).

Delgado-Ruiz *et al.* (2015) ont étudié le contact, l'épaisseur de la muqueuse péri-implantaire ainsi que la densité et l'orientation des fibres de collagène autour de vis de cicatrisation de différentes géométries (fig. 32).

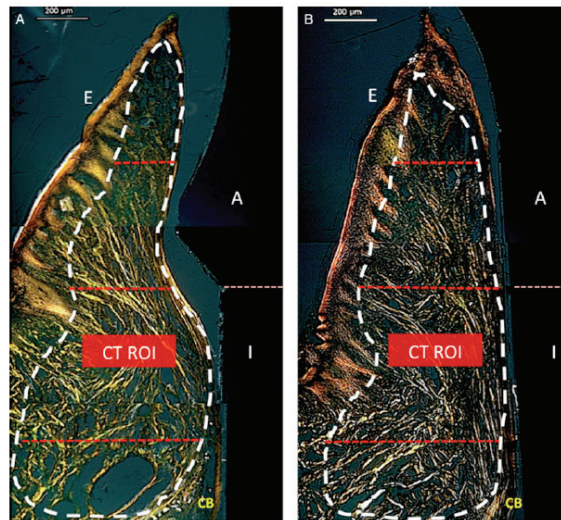


**Fig. 32** Photographie des vis de cicatrisation utilisées dans l'étude de Delgado-Ruiz *et al.* (2015). Vis concave (à gauche) et évasée (à droite).



Les résultats de cette étude indiquent que la largeur de la muqueuse péri-implantaire est plus importante autour des piliers évasés que des piliers concaves dans la zone médiane. Il apparaît également que les fibres de collagène s'organisent plus de manière perpendiculaire et oblique dans le tissu conjonctif autour d'implants à vis évasées.

Néanmoins les résultats de ces deux études sont discutables car les piliers « concaves » (Delgado-Ruiz *et al.* 2015) et « droits » (López-López *et al.* 2014) présentent en fait une convexité à la base du pilier dans la zone en relation avec le tissu conjonctif (fig. 33), la partie droite ou concave des piliers étant en relation avec l'étage épithélial de la muqueuse. Dans la discussion de leur article, Delgado-Ruiz *et al.* (2015) ont émis l'hypothèse que cette convexité à la base du pilier concave pourrait entraîner une compression de la muqueuse ayant pour conséquence un affinement de celle-ci.



**Fig. 33** Schéma de la méthodologie de mesure histomorphométrique de l'épaisseur de la muqueuse péri-implantaire à 3 niveaux : basal, médial et coronal (Delgado-Ruiz *et al.* 2015). La muqueuse est plus fine au niveau médial et coronal autour des vis concaves (à gauche) en comparaison avec les vis évasées (à droite). Il apparaît clairement sur cette image qu'au niveau médial et coronal le tissu conjonctif est en fait en relation avec une convexité du pilier sur les vis concaves.

Enfin, l'intérêt des « micro-grooves » pour favoriser la stabilité des tissus mous péri-implantaires a également été étudié. Les micro-grooves sont des modifications de la topographie de surface au niveau macroscopique qui dessinent une rigole ou concavité de faible hauteur à la base du pilier implantaire. Cette configuration semble favoriser un arrangement perpendiculaire des fibres de collagène (Nevins *et al.* 2008, 2010, 2012).



## SYNTHESE

La muqueuse péri-implantaire est une barrière composée d'une attache épithéliale et d'une attache conjonctive constituant l'espace biologique, qui a pour vocation de protéger les structures anatomiques profondes des agressions mécaniques et biologiques. Elle présente de nombreuses similitudes avec la gencive, mais de par sa nature cicatricielle, sa faible vascularisation et l'absence d'insertion fibreuse, elle est plus vulnérable.

L'établissement d'un espace biologique adéquat est crucial pour la santé des tissus péri-implantaires, et le maintien des tissus osseux et muqueux à un niveau le plus coronaire possible est nécessaire à l'obtention de résultats esthétiques.

Différents facteurs sont incriminés dans la survenue des remodelages tissulaires péri-implantaires : le ré-établissement de l'espace biologique en cas de muqueuse fine, le traumatisme tissulaire lors de la chirurgie ou de la réalisation de la prothèse, l'inflammation des tissus péri-implantaires à la jonction implant-pilier ou la retransmission des forces masticatoires à l'os marginal peuvent conduire à une perte tissulaire.

L'anatomie des tissus péri-implantaires est très dépendante de la conception et de la position de l'implant par rapport à la crête osseuse. L'état de surface du pilier, le type de connectique, la configuration de l'interface implant-pilier, la géométrie du col sont autant de paramètres qui influencent les remodelages tissulaires et par conséquent le niveau marginal des tissus péri-implantaires.

## 2<sup>ème</sup> PARTIE

### Travail expérimental

Influence du cône morse et du design transmuqueux concave  
sur l'adaptation tissulaire marginale précoce :  
étude histologique chez le Beagle

#### I/ RATIONNEL de l'ETUDE

---

Afin de répondre aux objectifs actuels en implantologie, la recherche et le développement industriel travaillent sur la conception des implants afin de favoriser l'intégration de la muqueuse et la préservation de l'os marginal péri-implantaire.

Les stratégies observées sont les suivantes :

- amélioration de l'étanchéité de la jonction implant-pilier : développement de connectiques étanches aux micro-organismes et rigides, afin d'éviter la contamination et les micro-mouvements à la jonction implant-pilier,
- mise en place d'éléments de micro-rétention et de surfaces rugueuses et/ou bioactives sur la partie endo-osseuse du col des implants afin de favoriser le maintien de l'os marginal,
- mise en place d'espaces « horizontaux » pour faciliter la mise en place de l'espace biologique.

En ce sens, deux systèmes implantaires ont été développés par la société Tekka devenue Global D par la suite (Brignais, Rhône, France) pour favoriser le maintien du tissu osseux à son niveau initial, et optimiser l'intégration des tissus mous :

- Implant TwinKon® :



- Implant une-part en alliage de titane Ti-6Al-4V
- Corps conico-cylindrique
- Etat de surface sablé qui s'étend sur l'épaule de l'implant et les 0,2 mm de la base du col
- Col transgingival concave de 1,5 mm de hauteur offrant un retrait de 0,4 mm
- Connectique conique externe
- Présence d'un anneau en plastique Peek® qui protège le cône pendant la phase de cicatrisation

- Implant In-Kone® :

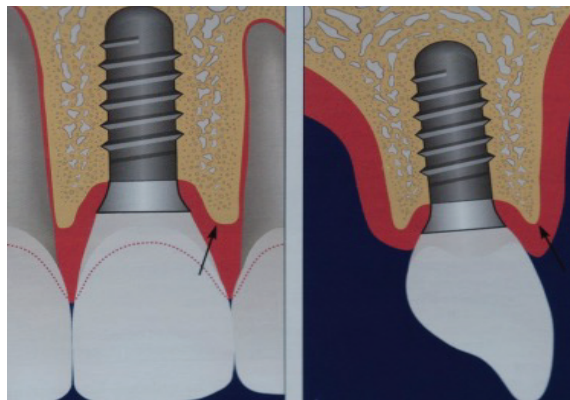


- Implant deux-parts en alliage de titane Ti-6Al-4V
- Corps cylindro-conique
- Etat de surface sablé qui s'étend sur le chamfrein de l'épaule de l'implant
- Connectique cône morse avec retrait implant-pilier de 0,4 mm

## I.1 Intérêt du col transmuqueux concave

Rappelons que l'intérêt des implants une-part est de positionner la jonction implant-pilier à une distance de 2 mm environ de la crête osseuse, favorisant l'établissement de l'espace biologique le long du col implantaire (Hermann *et al.* 2001-a) et supprimant ainsi la perte osseuse péri-implantaire.

Cependant, un enfouissement de ce col implantaire entraîne l'apparition d'une perte osseuse (fig. 34) du fait du positionnement sous-crestal de la partie lisse du col (Hermann *et al.* 2000-b).



**Fig. 34** Représentation schématique du remodelage osseux entraîné par l'enfouissement du col implantaire lisse des implants une-part (Buser *et al.* 2004).

De plus la configuration évasée des implants classiques une-part à col évasé entraînerait une compression de la muqueuse, un étirement des fibres de collagène fragilisant l'attache de la muqueuse sur le col implantaire, et compromettant la stabilité dimensionnelle dans le temps des tissus mous péri-implantaires (Touati *et al.* 2005, Rompen *et al.* 2008).

Pour répondre à ces problèmes, une nouvelle morphologie de col implantaire a été développée. Une connectique prothétique par cône morse externe, a permis d'introduire une striction du col transgingival sans fragiliser l'implant mécaniquement. Ainsi les risques de contamination et d'instabilité mécanique de l'interface pilier-implant sont supprimés et la cicatrisation est favorisée. Le col implantaire resserré et lisse autoriserait la formation d'un manchon gingival très résistant et garantirait une meilleure stabilité à long terme des tissus osseux et muqueux. Aucune donnée histologique sur l'influence de ce type de col n'était disponible au moment de la mise en place de cette étude.

## **I.2 Intérêt de la connectique interne cône morse et du platform-switching**

Cette connectique offre l'intérêt d'établir une friction très forte entre l'implant et le pilier, qui diminue considérablement la largeur du micro-gap et les possibilités de micro-mouvements et de contamination bactérienne. Elle suppose la mise en place d'un platform-switching : retrait de la jonction pilier-implant par rapport au col implantaire, qui ménage un espace horizontal pour la mise en place de l'espace biologique et éloigne le micro-gap de la crête osseuse.

Les études pré-cliniques ayant évalué l'intérêt de la connectique cône morse à l'époque de la construction du protocole de cette étude, rapportent une perte osseuse limitée (Berglundh *et al.* 2005, Weng *et al.* 2008, Noaves *et al.* 2009). Des données expérimentales existaient également concernant l'évaluation du platform-switching pour le maintien du niveau osseux à un niveau constant, mais les résultats étaient controversés et les paramètres pouvant les influencer restaient indéterminés (Becker *et al.* 2007, 2009).

## **II / OBJECTIF DU TRAVAIL EXPERIMENTAL**

---

L'objectif du travail présenté est d'analyser histologiquement chez le Beagle l'influence des deux systèmes implantaires présentés précédemment sur les dimensions et les caractéristiques de la muqueuse péri-implantaire, ainsi que sur la position de l'os marginal péri-implantaire à 3 et 12 semaines post-implantation sur des crêtes édentées cicatrisées, en l'absence de mise en charge.

### III/ ARTICLES ACCEPTES DANS DES REVUES INTERNATIONALES

---

Pour des raisons présentées dans la troisième partie de ce mémoire, les données concernant les deux systèmes implantaires sont rapportées dans deux articles différents.

L'article présenté en premier lieu concerne l'implant In-kone®. Cet article est actuellement *In Press* dans la revue *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* (Impact Factor : 1,007 – Impact Factor à 5 ans : 1,714). Nous avons choisi de soumettre dans cette revue car le thème du platform-switching y est souvent abordé.

Le deuxième article que nous présentons est celui concernant l'implant TwinKon®. Cet article est *In Press* dans la revue internationale *Implant Dentistry* (Impact Factor : 1,110 – Impact Factor à 5 ans : 1,82). Cette revue présente régulièrement les résultats d'études histologiques chez l'animal évaluant l'influence du design implantaire.

# **Soft tissue and marginal bone adaptation on platform switched implants with a morse cone connection: a histomorphometric study in dogs (*In Press*).**

Caroline BOLLE<sup>1-2-3</sup>, Marie-Paule GUSTIN<sup>6-7</sup>, Didier FAU<sup>8</sup>, Georges BOIVIN<sup>9-10</sup>, Patrick EXBRAYAT<sup>4</sup>, Brigitte GROSGOGEAT<sup>1-4-5</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces UMR CNRS 5615, Université Lyon 1, Université Lyon, Villeurbanne, France

<sup>2</sup>Université de Rennes 1, Faculté d'Odontologie, Université Européenne de Bretagne, Rennes, Cedex, France

<sup>3</sup>CHU de Rennes, Pôle d'Odontologie et de Chirurgie Buccale, Rennes, France

<sup>4</sup>UFR Odontologie, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>5</sup>Service de Consultations et de Traitements Dentaires, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>6</sup>Department of Public Health, Institute of Pharmacy (ISPB), EA4173, Université Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

<sup>7</sup>Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon, 162 Avenue Lacassagne, 69424 Lyon Cedex 03, France

<sup>8</sup>Interactions Cellule Environnement UPSP ICE 2011-03-101, Vet Agro Sup, Université de Lyon, Marcy l'Etoile, France

<sup>9</sup>INSERM, UMR 1033, Equipe «Qualité Osseuse et Marqueurs Biologiques», F-69372 Lyon, France

<sup>10</sup>Université de Lyon, F-69008 Lyon, France

## **Corresponding author**

Caroline Bolle

Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR CNRS 5615)

Faculté d'Odontologie de Lyon

11 Rue Guillaume Paradin

69372 Lyon Cedex 08 France

Phone: +33 4 78 77 86 89 Fax: +33 4 78 77 87 13

Email address: carolinebolle@hotmail.fr

## **Conflict of interest and source of funding statement**

All authors have stated that there is no conflict of interest in this study. The study was partially supported by a research grant from Tekka®, Global D, Brignais, France.



## **ABSTRACT**

**Objective** The purpose of our study was to investigate peri-implant tissue adaptation on platform switched implants with a morse cone type connection, after 3 and 12 weeks of healing in dogs.

**Methods:** Ten weeks after mandibular premolar extractions, eight beagle dogs received 3 implants each. At each biopsy interval, four animals were sacrificed and biopsies were processed for histological analysis.

**Results:** The height of the peri-implant mucosa was 2.32mm and 2.88mm respectively, whereas the bone level in relation to the implant platform was -0.39mm and -0.67mm respectively, after 3 and 12 weeks of healing.

**Conclusion:** Within the limits of the present study, platform switched implants exhibited reduced values of biological width and marginal bone loss when compared with previous data.

**Keywords:** Dental implant, platform switching, morse cone, histomorphometry, dog

## INTRODUCTION

Aesthetic and functional long-term success of implant-supported rehabilitations relies on the preservation of the peri-implant tissue levels in the most coronal position. Thus, the achievement of an efficient protective mucosal seal, and the preservation of the peri-implant marginal bone, during the first weeks of healing are essential to prevent long term implant failures. Soft tissue healing around implants requires 6 to 12 weeks after implant surgery<sup>1</sup>. A minimum width of soft tissue - called biological width - is needed, and during the healing, bone loss may occur to accommodate the soft tissues until the adequate dimensions are restored<sup>2</sup>.

In the past, a physiological marginal peri-implant bone loss of 1.5-2mm was reported around two-part implants<sup>3,4</sup>: it was mainly due to bacterial infiltration in the micro-gap at the implant-abutment interface ensuing an inflammatory process<sup>5</sup>, responsible for marginal bone loss<sup>4,6,7</sup>, biological width lengthening and marginal recession<sup>8</sup>.

Internal connections, and especially morse cone type connections, with a closer fit than the conventional butt-joint connections have been proposed to limit bacterial infiltration at the implant-abutment interface<sup>9,10</sup>. The platform switching concept was also introduced<sup>11</sup>: an inward horizontal mismatch of the implant-abutment junction, may move the inflamed connective tissue area away from the marginal peri-implant bone, and thus reduce marginal bone remodeling. It may additionally provide a horizontal healing space for the connective tissue, thus reducing the marginal bone loss due to soft tissue adaptation.

Systematic reviews and meta-analysis<sup>12,13,14,15</sup> have suggested that platform switching at two-part implants may help to preserve marginal bone levels. Positive outcomes were reported in histological studies<sup>16,17,18,19,20,21</sup>, whereas other studies<sup>22,23,24</sup> failed to demonstrate any specific advantage of platform switching in reducing marginal peri-implant bone loss. Becker et al. did not find any influence of platform switching on biological width characteristics<sup>22,23</sup>, while Baffone et al. and Farronato et al. reported a reduced height of biological width at platform switched implants<sup>19,20</sup>.

Based on these data, the purpose of the present study was to investigate the soft tissue and marginal bone adaptation on platform switched implants with a morse cone type connection, after 3 and 12 weeks of unloaded non-submerged healing in the beagle dog model.

## MATERIALS AND METHODS

The Committee of Ethics of the National Veterinary School of Lyon (VetagroSup®) approved the experimental protocol, and the surgeries were performed in a center dedicated to preclinical trials (Claude Bourgelat Institute, Marcy l'Etoile, France).

Eight beagle dogs (young adults approximately 10kgs and 10-12 months-old) with a fully erupted permanent dentition were included in this study, according to the ARRIVE guidelines<sup>25</sup>. The dogs were fed with a soft diet and housed in cages of two during the whole experimental period. Following an adaptation period of 2 weeks, tooth scaling was performed and a plaque control program was initiated (tooth-brushing with 0.20% chlorhexidine gel 3 times per week).

### **Titanium implants**

A commercially available sandblasted Ti-6Al-4V two-piece implant (In-Kone® implant, Tekka®, Global D, Brignais, France) with an internal morse cone type connection was selected (Fig. 1). The implants were 8.5mm long, with a cylindrical-conical<sup>a</sup> screw-type shape ( $\varnothing$  3.6mm). The horizontal mismatch between the implant body and the healing screw was 0.4mm. The implants were threaded to the top with twin-threads in the cervical portion. The sandblasted rough surface (sprayed with corundum micropowder) extended to the chamfered shoulder of the implant.

### **Study design and surgical procedure**

All the mandibular premolars were extracted. After a healing period of ten weeks, three implants per dog were randomly inserted in the residual mandibular left or right ridge at a distance of 10mm apart (Fig. 2a), with the implant platform located at the crestal bone level in the proximal aspects. The other sides of the mandibular edentulous ridge were used for another experimental purposes, the results of which will be reported with further data. The healing abutments were connected and the flaps sutured.

The surgical procedures were performed in an operating room, under general anesthesia and sterile conditions. For sedative purposes the animals received an injection of benzodiazepine (0.5mg/kg), acepromazine (0.1mg/kg) and glycopyrrolate (0.01mg/kg). General anesthesia was provided with ketamin (5mg/kg injected intravenously), and maintained with isoflurane inhalation. During the surgeries, the dogs were monitored with an electrocardiogram. To prevent any infection, a combination of amoxicillin and clavulanic acid (200mg/50mg) was given to the animals twice a day for ten days. For pain management, three injections of morphine were given to the dogs (0.2mg/kg, intravenously): before surgery, at the end of surgery and 4 hours later. In addition, a fentanyl transcutaneous patch (75µg/h) was placed on the day of surgery, and the animals received meloxicam for ten days (0.2mg/kg/j the first day and 0.1mg/kg/j the next nine days). At each biopsy interval (3 or 12 weeks), four animals were sacrificed with an overdose of pentobarbital. The implants and surrounding tissues were harvested using a trephine, under profuse irrigation.

---

<sup>a</sup> Nous attirons l'attention du lecteur sur le fait que cette donnée a été modifiée par rapport à la publication originale, dans laquelle la forme de l'implant est indiquée par erreur comme étant « conico-cylindrique ».

## Histological preparation and measurements

The biopsies were fixed in 2% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde in a sodium cacodylate buffer for one week, then dehydrated in increasing concentrations of ethanol, and finally embedded in methyl methacrylate. Non-decalcified ground sections were obtained using a method adapted from Donath & Breuner<sup>26</sup>. One central mesio-distal section was cut to a thickness of about 40µm by microgrinding and polishing, using an Exakt grinding unit (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany). The sections were stained with a modified Paragon.

Using a light microscope (Zeiss Axioskop®, Oberkochen, Germany) equipped with an imagery digital software (Bone Morpho Expert®, Explora Nova, La Rochelle, France), the following landmarks were identified: the marginal portion of the mucosa (PM), the apical extent of the junctional epithelium (aJE), the first bone-to-implant contact (fBIC), the implant shoulder (IS), and the top of the bone crest (BC) (Fig. 3). The PM-aJE, aJE-fBIC, PM-fBIC, IS-BC, IS-fBIC and BC-fBIC linear vertical distances were measured following the long axis of the implant on both mesial and distal aspects of the sections, and expressed in mm.

## Statistical method

Data were considered hierarchical with two replicated measurements (mesial view/distal view) nested in location on the arch (anterior, middle, or posterior) nested within each dog. Eight dogs were randomly assigned in two groups according to 3 or 12 weeks of healing periods. Data were available for 46 observations of six measurements (PM-aJE, aJE-fBIC, PM-fBIC, IS-BC, IS-fBIC, BC-fBIC). For one dog, all 6 variables were missing for two observations corresponding to two views on the same location. No data imputation was performed. Data probability law was checked graphically and using the normality Agostino test.

We adjusted for each variable a hierarchical three-level mixed-effects model to assess the healing period effect on each of the variables. We only took into account the random dog effects and the random location within dog effects on the outcome, considering the healing period effects constant for all dogs and location for each dog.

A significant level of 5% was selected. Statistics were performed using the R language, version 3.0.2. available on the <http://cran.r-project.org/> web site. The function lme of the R package nlme was used for the mixed-effects models.

## RESULTS

The average and standard deviation of PM-aJE, aJE- $\bar{B}$ IC, PM- $\bar{B}$ IC, IS-BC, IS- $\bar{B}$ IC and BC- $\bar{B}$ IC at 3 and 12 weeks are shown in Table 1 and the corresponding histological views are shown in Figure 4.

The post-operative healing was uneventful for all dogs, and no complication such as allergy or infection occurred throughout the whole experimental period (Fig. 2b, 2c). After 3 weeks of healing, areas of new bone apposition were observed both on the implant surface (contact osseointegration) and on the old bony bed (distant osseointegration). The presence of numerous osteoblasts was associated with an active synthesis of bone matrix (Fig. 5a). After 12 weeks, the peri-implant space contained new dense bone. Remodeling had started, and woven bone was replaced by lamellar bone organized in primary osteons (Fig. 5b).

At 3 weeks, as expected, the old bony bed in the coronal portion of the implant was still detectable. Intense bone apposition and bone remodeling were ongoing (Fig. 6a). At 12 weeks, the crestal remodeling and osseointegration were completed, and new bone had established the most coronal contact with the implant body (Fig. 6b). After 3 weeks, the first bone-to-implant contact was located 0.39mm below the implant platform. After 12 weeks, the location of the most coronal bone-to-implant contact within the implant platform was -0.67mm. The marginal bone level was statistically located more apically after 12 weeks of healing compared to the 3 weeks period (average: -0.67 versus -0.39mm). The BC- $\bar{B}$ IC value was -0.50mm after 3 weeks of healing and -0.69mm after 12 weeks. The difference was not significant.

After 3 weeks of healing, a non-keratinized junctional epithelium had started to form and lined 48% of the mucosal interface with titanium. The connective tissue exhibited early signs of organization with numerous fibroblasts and collagen fibers. After 12 weeks, the soft tissue maturation and collagen fiber organization were achieved. The junctional epithelium was in close contact with titanium and lined 57% of the transmucosal interface. The relationship between the junctional epithelium and the connective tissue are shown in Figure 7. The connective tissue interposed between the apical extent of the junctional epithelium and the marginal bone (Fig. 8a) was dense, rich in fibroblasts and collagen fibers, and in close contact to the titanium. Collagen fibers were laterally inserted into the crestal bone and running medially towards the healing abutment in a perpendicular direction (Fig. 8b). Small areas of inflamed connective tissue were observed along the sulcular epithelium, and occasionally close to the implant/abutment interface. The PM-aJE was statistically longer after 12 weeks of healing (1.12mm and 1.63mm at 3 and 12 weeks of healing respectively), the aJE- $\bar{B}$ IC value remained constant (1.24mm versus 1.19mm at 3 weeks), and the PM- $\bar{B}$ IC was longer after 12 weeks of healing (2.32mm and 2.88mm at 3 and 12 weeks respectively), but the difference was not statistically significant.

## DISCUSSION

The purpose of our study was to investigate the soft tissue and marginal bone adaptation on platform switched implants with an internal conical connection, after 3 and 12 weeks of unloaded non-submerged healing in the beagle dog model.

In the present study, after 3 weeks, a non-keratinized junctional epithelium had started to form and lined 48% of the mucosal interface with titanium. The junctional epithelium extended apically during the healing and lined 57% of the transmucosal interface at 12 weeks. The overall peri-implant mucosa dimensions varied from 2.32 to 2.88mm after 3 and 12 weeks. Evidence of peri-implant tissue maturation and collagen fiber organization was observed after 12 weeks. In the bone compartment, after 3 weeks, intense bone apposition and bone remodeling were ongoing, while after 12 weeks, the crestal remodeling and osseointegration were completed. The healing dynamics in the present study were generally in accordance with the histological observations reported by Berglundh et al. in a study about morphogenesis of the peri-implant mucosa<sup>1</sup>.

In the present investigation, the overall dimensions of the peri-implant mucosa were lower compared with previous histological findings at bone-level implants with matching abutments. Indeed, Berglund et al. and Hermann et al. reported that the biological width dimension at two-piece cylindrical implants with a matching abutment was 3.80mm<sup>8,27</sup>. Our results are in agreement with the outcomes of former histological studies about platform switching. Baffone et al. and Farronato et al. reported that an inward horizontal mismatch was associated with smaller values of biological width compared with conventional matching restorations<sup>19-20</sup>. Becker et al. failed to demonstrate a reduction of the biological width on platform switched implants after 28 days and 6 months of healing<sup>22,23</sup>. However, the authors had positioned the implant-abutment junction 0.4mm supracrestally, which therefore, minimized the possible advantages of platform switching. Thus, the present findings, when compared with the data published in the literature, suggest that platform switching may reduce the vertical area required to establish the biological width.

After 3 and 12 weeks, a marginal bone loss was observed but within a limited amount. Marginal bone remodelling at platform switched implants has been extensively studied in histological experiments in the past years. However, there is a great heterogeneity in implant transmucosal configurations, experimental protocols and results. Positive outcomes have been reported: different histological studies reported small values of marginal bone loss, and even bone reformation was depicted on the implant platform in some biopsies<sup>10,16,18,29,31</sup>; other studies reported a moderate bone loss which was limited compared with conventional matching implant-abutment configurations<sup>17,19,20,28</sup>; whereas, other studies totally failed to demonstrate any specific advantage of platform switching<sup>22,23,24</sup>. Five parameters in the implant-abutment configuration may have influenced the results in those animal studies. The amount of marginal bone loss appeared to be inversely related to the extent of the implant-abutment mismatch<sup>12,19,24</sup> and to the width of the transmucosal component<sup>29</sup>. Then, the use of

morse cone type connection with a close fit might play a crucial role in reducing inflammation and subsequent bone loss<sup>7,16,17,28</sup>. Bone reformation on the implant platform close to the implant-abutment junction of two-part implants seems to depend on the treatment surface characteristics of the implant collar, platform and abutment<sup>10</sup>. The fifth parameter is the apicocoronal position of implants in relation to the crestal bone. Although there is clear evidence that the sub-crestal placement of conventional two-part implants results in a more pronounced marginal bone loss<sup>6</sup>, a subcrestal placement (1.5mm) of implants with a morse cone connection might be more efficient in preserving the peri-implant marginal bone compared with an equicrestal placement<sup>16,17,30,31</sup>. In the same way, Koutouzis et al. reported in a clinical study that implants with a morse taper connection exhibited less bone loss below the implant platform when placed in a subcrestal position<sup>32</sup>. Nevertheless, Jung et al., in an animal study, showed a limited amount of marginal bone loss but which increased with the positioning depth<sup>33</sup>. According to Koutouzis et al. these results are related to an inflammatory infiltrate at the implant-abutment junction<sup>32</sup>. In a randomized controlled multicenter clinical trial, De Angelis et al. reported that platform-switching seems to reduce crestal bone loss<sup>34</sup>. Four systematic reviews and meta-analysis<sup>12,13,14,15</sup> have suggested that platform switching at two-part implants may help to preserve marginal bone levels; however, some of them focus on the fact that other parameters are to be taken into consideration such as, i.e., the extent of the mismatch<sup>12,13,14</sup>, the apico-coronal positioning<sup>13</sup>, and the implant neck micro-texture<sup>13</sup>. In an other systematic review, Romanos et al. concluded that discussion about the role of platform switching in minimizing marginal bone loss is still ongoing, and that bone loss seemed to be ruled by other factors such as implant design, micromotion at the implant-abutment interface, positioning depth and width of the bone crest<sup>35</sup>. The contribution of platform switching to marginal bone preservation and the importance of several technical and anatomical aspects are not yet clearly elucidated, both in the clinical and animal literature. Focusing on these data, some hypotheses may be suggested to explain the marginal bone loss reported in our study. Because inflammation was only occasionally observed close to the implant/abutment interface, the presence of an implant-abutment junction may have a minimal influence on marginal bone loss after 3 and 12 weeks of healing in our protocol. The increasing marginal bone loss combined with an increased biological width between the two healing periods may indeed indicate that the present transmucosal narrow configuration combined with the horizontal mismatch of 0.4mm allows to obtain small values of biological width, but not small enough for the entire formation of the mucosal seal above the implant shoulder, when the implant platform is placed at the crestal bone level, which results in a limited marginal bone loss. The equicrestal placement of the implant might be involved. It would be interesting to investigate the consequences of a deep (about 1.5mm) subcrestal placement. Further studies are necessary to clarify the etiology of such peri-implant marginal bone loss.

In conclusion, within the limits of the present study, platform switched implants placed at the crestal bone level exhibited reduced values of biological width and marginal bone loss when compared with previous data.



## AKNOWLEDGEMENTS`

We greatly appreciated the advice of Pr Jacqueline Trouillas, Dr Carole Auger, Dr Hélène Follet, Ms Catherine Simi and Mr Jean-Paul Roux during our histological investigations.

We are also very grateful to the Tekka® Global D team for their collaboration.

## REFERENCES

- 1 - Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:1-8.
- 2 - Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol* 1996;23: 971-973.
- 3 - Albrektsson T, Zarb G, Worthington P & Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1:11-25.
- 4 - Hermann JS, Cochran DL, Nummikovski PV, Buser D. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 1997;68:1117-1130.
- 5 - Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res* 2006;85:473-478.
- 6 - Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 2000;71:1412-1424.
- 7 - Weng D, Nagata MJ, Bell M, de Melo LG. Influence of microgap location and configuration on radiographic bone loss around submerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26: 941-946.
- 8 - Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Schoolfield JD, Cochran DL. Biologic width around one and two-piece titanium implants. A histometric evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:559-571.
- 9 - Berglundh T, Abrahamsson I & Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2005;32:925-932.
- 10 - Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. Subcrestal placement of two-part implants. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:226-231.
- 11 - Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:9-17.
- 12 - Atieh MA, Ibrahim HM & Atieh AH. Platform switching for marginal bone preservation around dental implants: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2010 ;81:1350-1366.
- 13 - Al-Nsour MM, Chan HL, Wang HL. Effect of platform-switching technique on preservation of peri-implant marginal bone: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27:138-145.

- 14 - Annibaldi S, Bignozzi I, Cristalli MP, Graziani F, La Monaca G, Polimeni A. Peri-implant marginal bone level: a systematic review and meta-analysis of studies comparing platform switching versus conventionally restored implants. *J Clin Periodontol* 2012;39:1097-1113.
- 15 - Strietzel FP, Neumann K, Hertel M. Impact of platform switching on marginal peri-implant bone-level changes. A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res* 2015;26:342-358.
- 16 - Weng D, Nagata MJ, Bell M, Bosco AF, de Melo LG, Richter EJ. Influence of microgap location and configuration on the periimplant bone morphology in submerged implants. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2008;19: 1141-1147.
- 17 - Weng D, Nagata MJ, Bell M, de Melo LG, Bosco AF. Influence of microgap location and configuration on peri-implant bone morphology in nonsubmerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:540-547.
- 18 - Cochran DL, Bosshardt DD, Grize L, Higginbottom FL, Jones AA, Jung RE, Wieland M, Dard M. Bone response to loaded implants with non-matching implant-abutment diameters in the canine mandible. *J Periodontol*. 2009;80(4):609-17.
- 19 - Baffone GM, Botticelli D, Canullo L, Scala A, Beolchini M, Lang NP. Effect of mismatching abutments on implants with wider platforms – an experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2012;23:334-339.
- 20 - Farronato D, Santoro G, Canullo L, Botticelli D, Maiorana C, Lang NP. Establishment of the epithelial attachment and connective tissue adaptation to implants installed under the concept of “platform switching”: a histologic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:90-94.
- 21 - Nevins M, Camelo M, Koo S, Lazzara RJ, Kim DM. Human histologic assessment of a platform-switched osseointegrated dental implant. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2014;34(suppl):s71-s73.
- 22- Becker J, Ferrari D, Herten M, Kirsch A, Schaer A, Schwarz F. Influence of platform switching on crestal bone changes at non-submerged titanium implants: a histomorphometrical study in dogs. *J Clin Periodontol* 2007;34:1089-1096.
- 23 - Becker J, Ferrari D, Mihatovic I, Sahm N, Schaer A, Schwarz F. Stability of crestal bone level at platform switched non-submerged titanium implants. A histomorphometrical study in dogs. *J Clin Periodontol* 2009;36:532-539.
- 24 - Baffone GM, Botticelli D, Pantani F, Cardoso LC, Schweikert MT, Lang NP. Influence of various implant platform configurations on peri-implant tissue dimensions: an experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:438-444.
- 25 - Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 2010; 8: e1000412.
- 26 - Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
- 27 - Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res* 1991;2:81-90.
- 28 - Heitz-Mayfield LJA, Darby I, Heitz F, Chen S. Preservation of crestal bone by implant design. A comparative study in minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2013;24:243-249.
- 29 - Finelle G, Papadimitriou DE, Souza AB, Katebi N, Gallucci GO, Araújo MG. Peri-implant soft tissue and marginal bone adaptation on implant with non-matching healing abutments: micro-CT analysis. *Clin Oral Implants Res* 2015;26:e42-46.

- 30 - Barros RR, Noaves AB Jr, Muglia VA, Iezzi G, Piatelli A. Influence of interimplant distances and placement depth on peri-implant bone remodelling of adjacent and immediately loaded morse cone connection implants: a histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:371-378.
- 31 - Noaves AB Jr, Barros RR, Muglia VA, Borges GI. Influence of interimplant distances and placement depth on papilla formation and crestal resorption: a clinical and radiographic study in dogs. *J Oral Implantol* 2009;35:18-27.
- 32 - Koutouzis T, Neiva R, Nonhoff J, Lundgren T. Placement of Implants with platform-switched morse taper connections with the implant-abutment interface at different levels in relation to the alveolar crest: a short term (1-year) randomized prospective controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:1553-1563.
- 33 - Jung RE, Jones AA, Higginbottom FL, Wilson TG, Schoolfield J, Buser D, Hämmerle CH, Cochran DL. The influence of non-matching implant and abutment diameters on radiographic crestal bone levels in dogs. *J Periodontol* 2008;79(2):260-270.
- 34 - De Angelis N, Nevins ML, Camelo MC, Ono Y, Campailla M, Benedicenti S. Platform Switching Versus Conventional Technique: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2014;34(suppl):s75-s79.
- 35 - Romanos GE, Javed F. Platform switching minimises crestal bone loss around dental implants: truth or myth? *J Oral Rehabil* 2014;41:700-708.

TABLE

Implant group	(n)	IS- <i>f</i> BIC		BC- <i>f</i> BIC	IS-BC
3 weeks	24	<b>-0.39</b> (0.25)	↕	<b>-0.50</b> (0.42)	<b>0.11</b> (0.35)
12 weeks	24	<b>-0.67</b> (0.35)		<b>-0.69</b> (0.55)	<b>0.02</b> (0.49)
Implant group	(n)	PM-aJE		aJE- <i>f</i> BIC	PM- <i>f</i> BIC
3 weeks	21	<b>1.12</b> (0.32)	↕	<b>1.19</b> (0.56)	<b>2.32</b> (0.56)
12 weeks	24	<b>1.63</b> (0.59)		<b>1.24</b> (0.36)	<b>2.88</b> (0.65)

Data are expressed in mm, as average and standard deviation, (n) = number of measured sites,  $\longleftrightarrow$  p < 0,05

*Tab. 1.* Results from the histomorphometry. Epithelial tissue (PM-aJE); connective tissue (aJE-*f*BIC); biological width (PM-*f*BIC); peri-implant crestal and marginal bone levels (IS-*f*BIC, BC-*f*BIC, IS-BC).

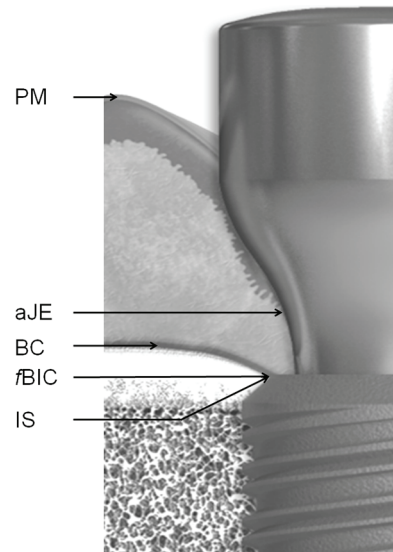
## FIGURES



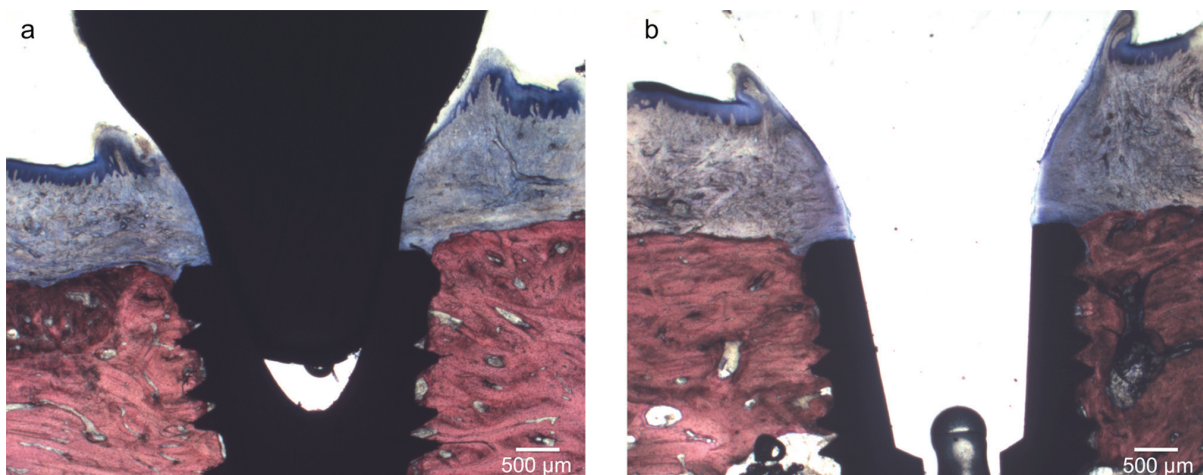
*Fig. 1.* The In-Kone® implant has a two-piece design with an internal conical connection.



*Fig. 2.* Implants in the alveolar mandibular ridge. (a) After insertion and flap suturing. (b) After 3 weeks of healing the soft tissue healing process is well advanced with good wound closure. (c) After 12 weeks of healing the peri-implant mucosa is clinically mature.

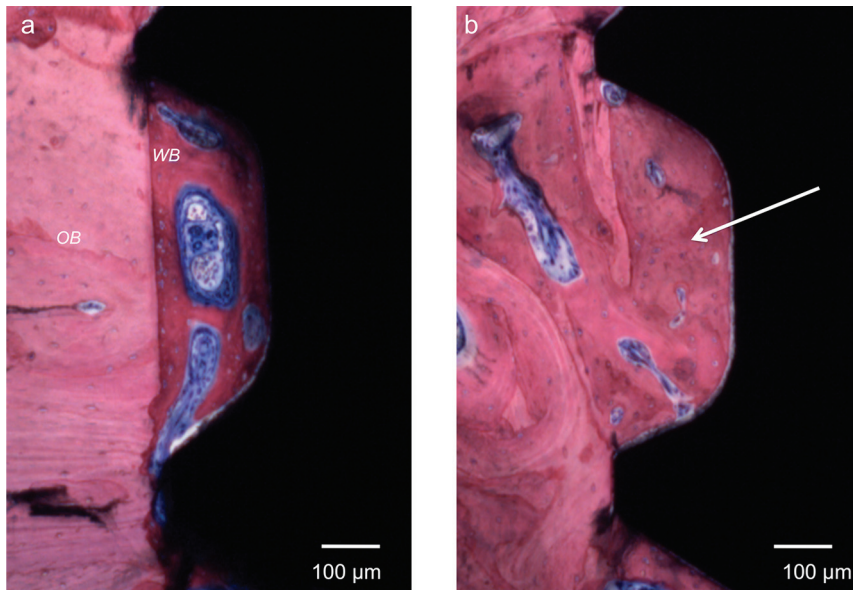


*Fig. 3.* Schematic representation of the landmarks used for histological measurements: the implant shoulder (IS), the first bone-to-implant contact (fBIC), the top of the bone crest (BC), the marginal portion of the mucosa (PM), and the apical extent of the junctional epithelium (aJE).

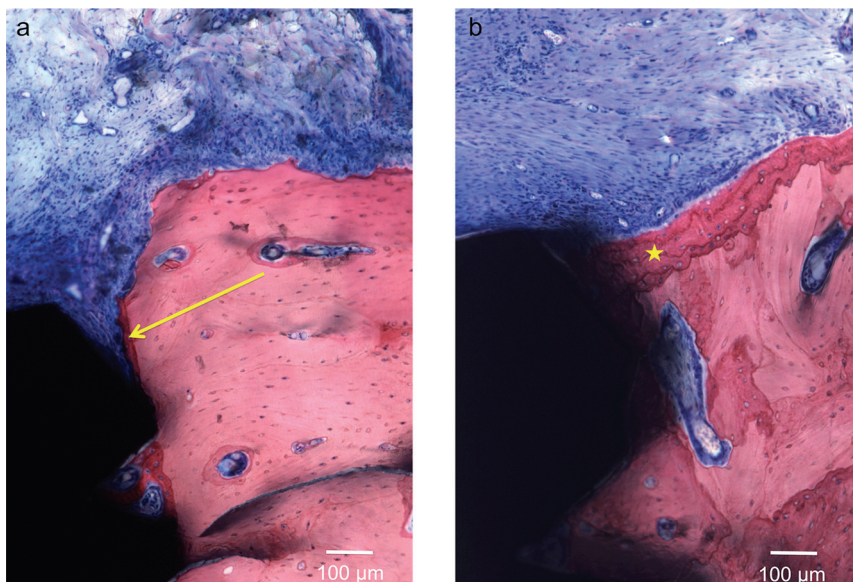


*Fig. 4.* Mesio-distal non-decalcified ground sections. (a) After 3 weeks. (b) After 12 weeks of healing. Light microscopic views, modified Paragon staining.

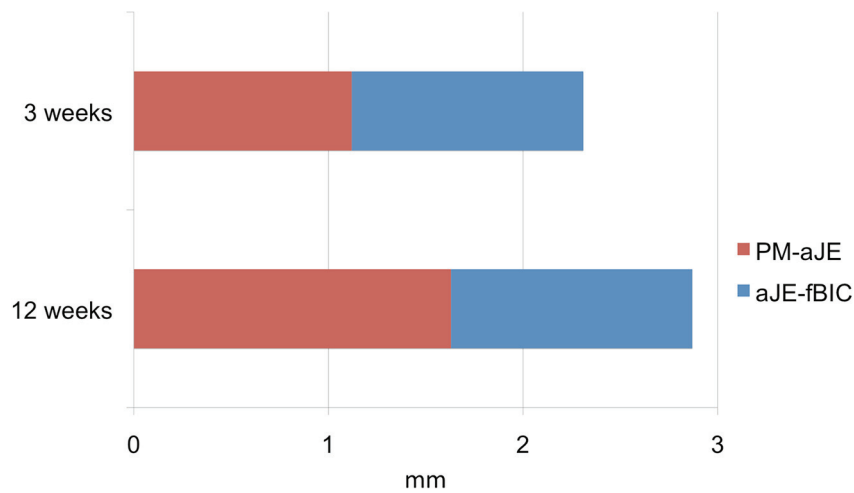




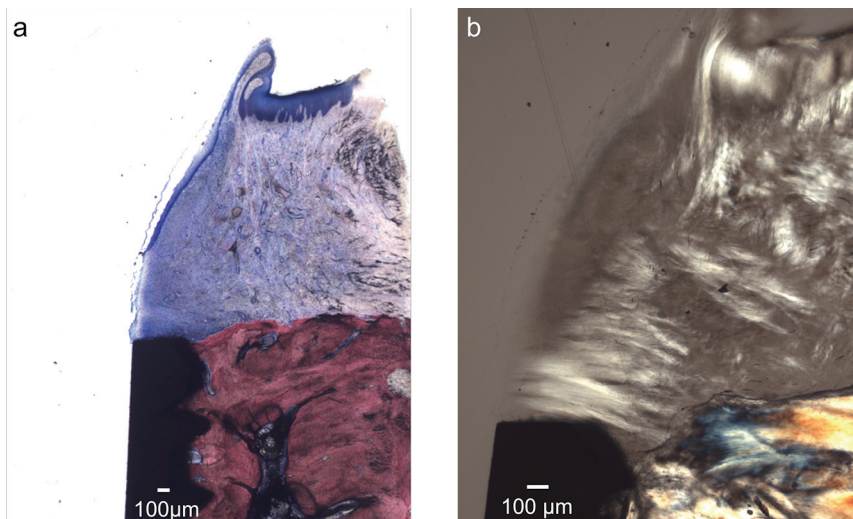
*Fig. 5.* Light microscopy images illustrating the osseointegration process. (a) In the cortical bone compartment, after 3 weeks of healing, woven bone is present both on the implant surface and on the old bony bed. (b) After 12 weeks of healing, woven bone is replaced by lamellar osteons. Ground non-decalcified mesio-distal sections, modified Paragon staining, WB: woven bone, OB: old bone, white arrow: lamellar osteon.



*Fig. 6.* Marginal bone healing. (a) After 3 weeks of healing, the marginal bone remodeling is on-going, the first pitch of the implant thread is in contact with the old bony bed (light pink), woven bone (dark pink) is detectable on the old bony bed. (b) After 12 weeks, the new bone has established the most coronal contact with the implant body. Light microscopic views, modified Paragon staining, ground non-decalcified mesio-distal sections, yellow arrow: old bony bed, yellow star: woven bone.



*Fig. 7.* Histogram representing the vertical distribution of the peri-implant soft tissues after 3 and 12 weeks of healing. Epithelial (red) and connective (blue) tissues, dimensions expressed in mm.



*Fig. 8.* Soft tissue organization. (a) After 12 weeks, the junctional epithelium is in close contact with the titanium, a dense connective tissue is interposed between the apical extent of the junctional epithelium and the first bone-to-implant contact; light microscopy, modified Paragon staining, ground non-decalcified mesio-distal section. (b) After 12 weeks of healing, collagen fibers are inserted into the crestal bone and run perpendicularly to the abutment; light polarized microscopy, modified Paragon staining, ground non-decalcified mesio-distal section.



# **Early peri-implant tissue healing on one-piece implants with a concave transmucosal design: a histomorphometric study in dogs.** *(In Press).*

Caroline BOLLE, DDS<sup>1-2-3</sup>, Marie-Paule GUSTIN, DS, PhD<sup>6-7</sup>, Didier FAU, DVM, PhD<sup>8</sup>, Georges BOIVIN, PhD<sup>9-10</sup>, Patrick EXBRAYAT, DDS<sup>4-5</sup>, Brigitte GROSGOGEAT, DDS, PhD<sup>1-4-5</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces UMR CNRS 5615, Université Lyon 1, Université Lyon, Villeurbanne, France

<sup>2</sup>Université de Rennes 1, Faculté d'Odontologie, Université Européenne de Bretagne, Rennes, Cedex, France

<sup>3</sup>CHU de Rennes, Pôle d'Odontologie et de Chirurgie Buccale, Rennes, France

<sup>4</sup>UFR Odontologie, Université Lyon 1, Lyon, France

<sup>5</sup>Service de Consultations et de Traitements Dentaires, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

<sup>6</sup>Department of Public Health, Institute of Pharmacy (ISPB), EA4173, Université Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

<sup>7</sup>Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon, 162 Avenue Lacassagne, 69424 Lyon Cedex 03, France

<sup>8</sup>Interactions Cellule Environnement UPSP ICE 2011-03-101, Vet Agro Sup, Université de Lyon, Marcy l'Etoile, France

<sup>9</sup>INSERM, UMR 1033, F-69008 Lyon, France

<sup>10</sup>Université de Lyon, F-69008 Lyon, France

## **Corresponding author**

Caroline Bolle

Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR CNRS 5615)

Faculté d'Odontologie de Lyon

11 Rue Guillaume Paradin

69372 Lyon Cedex 08 France

Phone: +33 4 78 77 86 89 Fax: +33 4 78 77 87 13

Email address: [carolinebolle@hotmail.fr](mailto:carolinebolle@hotmail.fr)

## **Conflict of interest and source of funding statement**

All authors have stated that there is no conflict of interest in this study. The study was partially supported by a research grant from Tekka®, Global D, Brignais, France.

# Early peri-implant tissue healing on one-piece implants with a concave transmucosal design: a histomorphometric study in dogs.

## ABSTRACT

**Introduction:** The purpose of our study was to investigate the early healing phase of marginal bone and soft tissues around unloaded one-piece implants with a concave transmucosal design, in a dog model.

**Methods:** Twenty-four one-piece implants with a concave transmucosal neck were inserted 1mm subcrestally in the mandibular ridge of eight beagle dogs. Four animals were sacrificed after 3 and 12 weeks of healing. Histomorphometric analysis was performed to measure the height of the peri-implant tissues.

**Results and Discussion:** The overall height of the peri-implant mucosa was respectively 2.67mm and 2.52mm, after 3 and 12 weeks. In the connective tissue, a soft tissue O-ring seal was observed in the healing area provided by the transmucosal concavity, after 12 weeks. The location of the first bone-to-implant contact facing the implant shoulder was 0.00mm and + 0.18mm respectively, after 3 and 12 weeks of healing. Some bone apposition occurred on the implant shoulder during the healing.

**Conclusion:** Within the limits of the present study, a concave transmucosal design in one-piece implants was associated with a short vertical value of biological width, and promoted a mechanical interlocking of the implant body at the connective tissue and marginal bone levels.

## Keywords

Narrow transmucosal design, biological width, histomorphometry, dental implant

## INTRODUCTION

The achievement of an adequate mucosal attachment and marginal bone preservation during early healing are essential to ensure long-term aesthetic and functional success for implant-supported rehabilitations.

Peri-implant mucosa is an efficient protective seal between the oral environment and the osseointegrated part of the implant. The formation and maturation of this soft tissue barrier require 6 to 12 weeks after implant surgery (1). A minimum width of peri-implant soft tissue - called biological width - is required, and during the healing, bone loss may occur to accommodate the soft tissues until the adequate dimensions are restored (2). The marginal level of the mucosa, which is essential for good aesthetics, also depends on the level of the underlying bone support. There is a real interaction between the mucosa, as a protective seal for osseointegration, and the marginal peri-implant bone supporting the mucosa.

The characteristics of an implant transmucosal design (connections, platforms, surface properties) are related to biological width dimensions, marginal peri-implant bone levels and the amount of inflammation in the peri-implant soft tissue. For years, two design parameters have been identified as crucial during the first weeks of healing. First of all, a micro-gap at the implant-abutment interface of two-part implants creates an inflammatory process due to micro-movement and bacterial infiltration (3, 4, 5), leading to marginal bone loss (6, 7, 8), biological width lengthening, and marginal recession (9) when the implant/abutment interface was positioned at bone level or subcrestally. Furthermore, a "smooth" surface of the endosseous part of the implant collar is responsible for early marginal peri-implant bone loss (7, 10) and biological width lengthening (9).

More recently, the influence of the transmucosal component design on peri-implant soft tissue integration and marginal bone remodeling has been suggested. Conventional flared transmucosal components might compress and weaken the peri-implant mucosa, while concave transmucosal designs may promote the adhesion, thickness and mechanical properties of the connective tissue (11). A narrow transmucosal design increases the length of the implant-tissue contact, and provides a horizontal healing space for the connective tissue which might reduce the height required for biological width, and subsequently the marginal bone loss due to soft tissue adaptation (11, 12, 13).

According to Rompen et al., in a pilot clinical study, a concave transmucosal profile in two-part implants led to a better and more predictable soft tissue stability in the aesthetic zone compared to the previous published data on implants with a divergent transmucosal design (13).

Only two histological studies have been recently carried out to investigate this implant design with a supracrestal implant-abutment interface (14, 15). Both authors reported lower amounts of bone resorption on concave transmucosal profiles compared to straight profiles. However, controversial outcomes were reported about peri-implant mucosa dimensions. According to Kim et al., the vertical dimensions of the peri-implant mucosa were similar on concave, straight or flared transmucosal one-

piece implants after 6 months of unloaded healing in the beagle dog (14), while Huh et al. reported that a concave transmucosal design led to lower biological width vertical values, compared to straight profiles after 16 weeks of loaded healing in the beagle dog (15).

Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of a concave transmucosal design of one-piece implants on peri-implant mucosa maturation, dimensions, collagen fiber organization, and marginal bone levels after 3 and 12 weeks of healing in the beagle dog.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals**

The experimental protocol was approved by the Committee of Ethics of the National Veterinary School of Lyon (VetagroSup®), and the surgical procedures were performed at the Claude Bourgelat Institute, a specific center for preclinical trials.

Eight young adult beagle dogs (10-12 months-old and approximately 10kgs) were included in this study according to the ARRIVE guidelines (16). The experimental part of the study started after an adaptation period of 2 weeks. At the beginning of the study, all animals exhibited a fully erupted permanent dentition. After tooth scaling, a plaque control program was initiated, consisting in cleaning with a soft toothbrush (Méridol®, GABA, France) and 0.20% chlorhexidine gel (Elugel®, Pierre Fabre, France) 3 times per week during the whole experimental period. The dogs were fed with a soft diet and water, and were housed in cages of two for the entire duration of the experiment.

### **Implants**

A commercially available sandblasted Ti-6Al-4V implant (TwinKon® implant, Tekka®, Global D, Brignais, France) was selected according to the concave configuration of its transmucosal neck (Fig. 1). This implant has a one-piece design with a concave transmucosal collar and an external conical connection located above the collar. The external conical connection is protected with a PEEK plastic ring. The concave transmucosal part is 1.5mm high and 1.73mm long. The horizontal inward mismatch between the implant body and the transmucosal component is 0.4mm. The selected implants were 8.5mm long, with a conico-cylindrical screw-type shape ( $\varnothing$  3.5mm). The sandblasted surface (sprayed with corundum micropowder) extends to the apical portion (0.20mm high) of the transmucosal neck. The coronal portion of the transmucosal neck is machined (1.3mm high).

### **Surgical procedure**

The study was performed in two surgical steps. At the beginning of the experiment, all the mandibular premolars were carefully extracted after tooth separation. Following a healing period of ten

weeks, the surgery for implant insertion was performed, using midcrestal incisions and mucoperiosteal flap elevation. Three implants per dog were randomly assigned to the residual mandibular left or right ridge (Fig. 2a). The opposite sides of the mandibular edentulous ridge were used for another experimental purpose, the results of which will be reported with further data. A total of 24 fixtures were carefully inserted, under profuse irrigation with sterile saline (Versol®, Laboratoire Aguetant, Lyon, France), spacing the implants at a distance of 10mm apart. The implant body shoulder was positioned with good primary stability 1mm subcrestally. Implant healing abutments were connected immediately following implant placement. The flaps were repositioned and sutured with 4-0 braided absorbable sutures (Vicryl®, Ethicon Inc., Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA). During the ten days following each surgery, the tooth-brushing program (3 times per week) was replaced by daily spraying with 0.20% chlorhexidine (Eluspray®, Pierre Fabre, France). Sutures were removed ten days after surgery. The animals were divided into two groups, with 4 animals in each group, according to the healing periods: 3 and 12 weeks.

All surgical procedures were performed under general anesthesia and sterile conditions. For premedication purposes the animals were injected with a cocktail of benzodiazepine (0.5mg/kg; Valium® Roche 5mg, Roche, Boulogne-Billancourt, France), acepromazine (0.1mg/kg; Vétranquil®, Ceva Sante Animale, Libourne, France) and glycopyrrolate (0.01mg/kg; Robinul®, Vétoquinol, Paris, France). General anesthesia was induced intravenously with ketamin (5mg/kg; Imalgène® 1000, Merial, Lyon, France) and maintained using isoflurane inhalation (Vetflurane®, Virbac, Carros, France). The animals were monitored with an electrocardiogram (Dynascope DS 7100, Fukuda Denshi, Tokyo, Japan) during the procedures. For pain control, the animals received three intravenous injections of morphine (Morphine chlorhydrate Lavoisier®, Laboratoire Chaix et Du Marais, Paris, France): for premedication, at the end of the procedure and 4 hours after the extubation (0.2mg/kg). In addition, a fentanyl transcutaneous patch (Durogésic®, Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux, France) was placed on the day of surgery (75µg/h), and meloxicam (Métacam®, Boehringer-Ingelheim, Reims, France) was given to the animals for ten days (0.2mg/kg/j the first day and 0.1mg/kg/j the next nine days). To prevent any infection, the dogs received a combination of amoxicillin and clavulanic acid (Augmentin®, Laboratoire GlaxoSmithKline, Marly-le-roi, France) twice a day for ten days (200mg/50mg).

At the end of the healing period, the animals were sacrificed with an overdose of pentobarbital (Doléthal®, Vétoquinol, Paris, France). The fixtures and surrounding hard and soft tissues were then carefully harvested using a trephine (Stoma®, Storz am Mark GmbH, Emmingen-Liptingen, Germany) with an inner diameter of 10mm, under irrigation (Fig. 2d).

## Histological preparation and analysis

The samples were immediately fixed in 2% glutaraldehyde 2% paraformaldehyde in a sodium cacodylate buffer for one week. Dehydration was performed in serial steps of ethanol concentrations and the blocks were finally embedded in methyl methacrylate (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Non-decalcified sections were prepared using a method adapted from Donath & Breuner (1982). The polymerized blocks were cut in the mesio-distal plane parallel to the long axis of each implant (Fig. 3a), using a diamond wire saw (Well 3242, Well Diamond Wire Saws Inc., Norcross, GA, USA). One central mesio-distal section (Fig. 3c), was obtained and reduced by microgrinding and polishing, starting from the lingual part of each block, to a thickness of about 40µm, using an Exakt grinding unit (Exakt Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Germany). The ground sections were then superficially stained with a modified Paragon, and the histomorphometric quantification was performed at different magnifications, using a light microscope (Zeiss Axioskop, Carl Zeiss SMT GmbH, Oberkochen, Germany) equipped with an imagery digital software (Bone Morpho Expert®, Explora Nova, La Rochelle, France).

For each section, the marginal portion of the mucosa (PM), the apical extent of the junctional epithelium (aJE), the first bone-to-implant contact (fBIC), the implant shoulder (IS), and the top of the bone crest (BC) were identified at both the mesial and distal sides of the sections, and used for the linear measurements, thus resulting in 2 measured sites per implant (Fig. 4). The vertical distances between the landmarks were determined in a direction that was parallel to the long axis of the implant and expressed in millimeters for PM-aJE, aJE-fBIC, PM-fBIC, IS-BC, IS-fBIC and BC-fBIC. The length of the soft tissue was also measured according to the shape of the soft tissue-implant interface (PM-aJE length, aJE-CLB length, PM-fBIC length).

The buccal parts of each block were cut bucco-lingually and parallel to the long axis of the implant (Fig. 3b) using a diamond wire saw. The implants were mechanically removed and the residual blocks were re-embedded in methyl methacrylate fast and cold curing resin (Technovit®3040, Heraus Kulzer GmbH, Wehrheim, Germany) and processed to obtain thin non-decalcified histological sections (about 8µm), using a microtome (Leica SM2500, Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Germany). Vertical sections were performed parallel to the long axis of the concave abutment, resulting in buccal thin sections (Fig. 3d), and were stained with Goldner trichrome. Horizontal sections were performed perpendicular to the concave abutment (in the small axis of the implant) (Fig. 3e) and were stained with toluidine blue. These sections were then observed at different magnifications; using a light microscope (Zeiss Axioskop) equipped with an imagery digital software (Bone Morpho Expert®). Identical methodological procedures are reported by Boivin & Meunier (18).

In the remaining part of the buccal blocks, ultra-thin vertical sections (approximately 70nm thick) were cut in the connective tissue using a Reichert ultracut E (Leica Microsystems GmbH,

Wetzlar, Germany) ultra-microtome, (Fig. 3d). These sections were mounted on 200 mesh copper grids coated with 1:1.000 poly-lysine, stabilized for 1 day at room temperature (RT), and contrasted with uranyl acetate and lead citrate. Sections were observed using a Jeol JEM-1400 (Jeol Ltd, Tokyo, Japan) transmission electron microscope operating at 80Kv, equipped with an Orius-600 camera (Gatan Inc., Pleasanton, CA, USA) and with an imagery digital software (DigitalMicrograph®, Gatan Inc., Pleasanton, CA, USA). Electron micrographs were obtained from the connective tissue in the 200µm segment next to the implant collar surface.

## **Statistical method**

A power analysis was conducted to determine the number of dogs required to detect population differences corresponding to a large Cohen's effect size ( $\geq 1$ ) between the two healing periods, whatever the variables (19). The power was set at 90% and the significant level  $p$  at 5%. For an adequate implant distribution, 3 implants per animals with two replicates (mesial and distal views) were placed, thus allowing 6 observations per animal.

In order to study the healing period effect on each of the variables, we took into account the hierarchical data structure (view/location/dog), and we performed for each variable a three-level mixed-effects model. Only the intercept was considered random assuming that the effect of the healing period on the outcome was independent from the dog and the location.

A significant level of 5% was selected. Statistics were performed using the R language, version 3.0.2. available on the <http://cran.r-project.org/> web site. The function `pwr.t.test` of the R package `pwr` was used for the power analysis and the function `lme` of the R package `nlme` for the mixed-effects models. In case of missing data, they were supposed to be missing completely at random, and no data imputation was performed. Data distribution normality was checked graphically and using the normality Shapiro-Wilk test.

## **RESULTS**

### **Clinical observations**

The post-operative healing was uneventful for all implants and no complication was noted during the whole follow-up period. After 3 weeks, the soft tissue healing process appeared to be well advanced with good wound closure (Fig. 2b). No clinical sign of peri-implant mucosa inflammation was observed. After 12 weeks, the peri-implant mucosa appeared to be clinically mature. A slight redness of the mucosa was observed both on the abutments and remaining teeth (Fig. 2c). All 24 implants were clinically osseointegrated.



## **Histological observations**

### *Soft tissue healing*

After 3 weeks of healing, a non-keratinized epithelium was formed. The connective tissue exhibited some signs of organization with numerous fibroblasts disposed along the axis of the collagen fibers. Minor inflammatory infiltrated areas were observed in the connective tissue along the sulcular epithelium (Fig. 5a, 5b, 5c).

After 12 weeks, the tissue maturation and collagen bundle organization were achieved. The junctional epithelium was mature and in close contact with the titanium surface. The extent of the junctional epithelium was located in the coronal part of the concave abutment below the PEEK ring. Areas of inflammation were regularly detected in the connective tissue adjacent to the junctional epithelium extending as far as the implant-PEEK apical junction. A dense connective tissue in close contact with the titanium surface in the collar concavity was interposed between the apical extent of the junctional epithelium and the marginal bone (Fig. 5d, 5e, 5f). This connective compartment was devoid of inflammatory infiltrate.

### *Collagen fiber orientation in the connective tissue after 12 weeks*

The connective tissue was rich in fibroblasts and collagen fibers which were inserted into the crestal bone and running towards the abutment in a horizontal and convergent direction (Fig. 6a). Closer to the implant collar, in the thin histological horizontal sections, a circular organization of the collagen fibers was detected in the horizontal healing space provided by the transmucosal concavity, with a width of about 500µm (from the implant collar towards the periphery) in the transversal (horizontal) plane (Fig. 6b). The thin and ultra-thin vertical sections showed collagen fibers cut transversely suggesting a parallel circumferential arrangement of the collagen fibers around the concave collar (Fig. 6c, 6d).

### *Marginal bone remodeling*

After 3 weeks of healing, intense bone apposition on the implant surface and crestal bone remodeling were on-going. The first bone-to-implant contact was located at the implant shoulder. Woven bone was detectable on the old bone bed at the marginal level, but away from the implant shoulder (Fig. 7a). The first pitch of the implant thread was still in contact with the old bone bed.

After 12 weeks, the crestal remodeling and osseointegration processes were completed (Fig. 7). New bone had established the most coronal contact with the implant body (Fig. 7b).

## Histomorphometrical measurements

A sample of 4 dogs per group was determined to have sufficient power. Each of the 8 dogs was sampled according to a healing period (3 or 12 weeks). For each dog, three locations on the arch were selected (anterior, middle, posterior), and for each location, two measurements were replicated on each view (mesial/distal), thus providing 48 observations for nine variables (PM-aJE, aJE- $\bar{f}$ BIC, PM- $\bar{f}$ BIC, IS-BC, IS- $\bar{f}$ BIC, BC- $\bar{f}$ BIC, PM-aJE length, aJE-CLB length, PM- $\bar{f}$ BIC length). Three observations were missing for 6 variables.

Data for the histomorphometric measurements are summarized in Table 1.

### *Dimensional changes of the peri-implant mucosa*

The PM-aJE was much longer after 12 weeks of healing (1.87mm versus 1.36mm after 3 weeks), the decrease of aJE- $\bar{f}$ BIC was statistically significant ( $p = 0.01$ ) with 1.42mm and 0.65mm at 3 and 12 weeks of healing respectively, and the PM- $\bar{f}$ BIC was shorter after 12 weeks of healing (2.78mm and 2.52mm at 3 and 12 weeks respectively); however, the difference was not significant.

The relationship between the epithelium and the connective tissue, components of the biological width, are presented in Figure 8. After 3 weeks of healing, the epithelial barrier represented about 49% of the transmucosal interface while after 12 weeks of healing the epithelial compartment represented 74% of the transmucosal vertical dimensions.

After 3 weeks, the PM- $\bar{f}$ BIC length was 3.20mm with a PM-aJE length of 1.58mm and a aJE- $\bar{f}$ BIC length of 1.62mm. After 12 weeks, the PM- $\bar{f}$ BIC length was 3.07mm with a PM-aJE length of 2.38mm and an aJE- $\bar{f}$ BIC length of 0.69mm. The difference between the length of the epithelium and the connective tissue recorded at the two periods was statistically significant ( $p = 0.02$  and  $p = 0.01$ ).

The difference between the length and height of the epithelial tissue, connective tissue and biological width after 3 and 12 weeks were statistically significant (respectively  $p = 0.00$ ,  $p = 0.04$  and  $p = 0.05$ ). After 3 weeks, the difference between the length and height of the biological width was 0.42mm, while it was 0.55mm after 12 weeks.

### *Marginal and crestal bone levels*

The BC- $\bar{f}$ BIC was -0.93mm after 3 weeks of healing and -0.72 mm after 12 weeks. A crestal bone remodeling occurred during the healing. After 12 weeks, the location of the first bone-to-implant contact was 0.18mm. The marginal bone was located above the implant shoulder in 96% of the sections. Some bone apposition occurred on the implant shoulder during the healing.

The marginal bone level was located more coronally after 12 weeks of healing compared to the 3 weeks period (average: 0.18mm versus 0.00mm), but the difference was not statistically significant.

## DISCUSSION

This experimental study evaluated the influence of a concave transmucosal design of one-piece implants on soft tissue maturation, dimensions, collagen fibers organization and peri-implant marginal bone levels after 3 and 12 weeks of healing in the beagle dog.

In the present investigation, after 3 weeks the mucosa healing was still on-going, a non-keratinized junctional epithelium was formed, and a connective tissue was interposed between the apical extent of the junctional epithelium and the crestal bone. An epithelial downgrowth and a decrease of the connective tissue compartment occurred during the healing. After 12 weeks, tissue maturation and collagen bundle organization were completed. The peri-implant mucosa dimensions were similar after 3 and 12 weeks. The healing dynamics were similar to the dynamics reported on one-piece implants with flared profiles by Berglundh et al. (1). These authors reported that the height of the peri-implant mucosa varied from 3.1 and 3.5mm between 2 and 12 weeks of healing, thus remaining almost the same. A junctional epithelium started to form after 2 weeks and extended in an apical direction until 6 weeks of healing, while the connective tissue compartment decreased. According to these authors, soft tissue maturation required 6 to 8 weeks of healing. During our study, we observed that the healing was completed after 12 weeks. However, according to the results published in the literature (1), it is possible that the healing was completed before this delay, even though no observation was recorded between 3 and 12 weeks, which would have allowed to check and/or confirm this data.

In the present experimental study, vertical values of peri-implant mucosa were less than 3mm after 3 and 12 weeks (respectively 2.78 and 2.52mm). These values were lower compared to previous findings on one-piece implants.

Indeed, Hermann et al. reported that the dimensions of the peri-implant mucosa on one-piece cylindrical implants was 3.57mm when the rough/smooth border was located 1mm subcrestally, and 2.84mm when the rough/smooth border was located at bone crest level after 6 months of unloaded healing (9). Kim et al. reported no difference in soft tissue vertical values on concave, straight or flared transmucosal profiles after 6 months of unloaded healing, with the following values of 2.72 (straight), 2.91 (narrow) and 3.04mm (flared) (14). However, Huh et al. reported lower peri-implant mucosa heights on concave transmucosal profiles (2.36mm) compared to straight transmucosal profiles (2.88mm) after 16 weeks of healing; but the results were not statistically significant (15). These propensities are in accordance with the present findings.

In the same way, Finelle et al., in a beagle dog model, compared the bone apposition on the implant shoulder of implants with narrow and wide abutments, using a micro-CT analysis. According to the authors narrow abutments provide more space to accommodate the biological width, thus reducing the marginal bone remodeling (20).

Furthermore, after 12 weeks of healing, the inwardly narrowed profile led to a length of mucosa/implant interface of 3.07mm with a reduced vertical value of 2.52mm. The length of 3.07mm is

close to previous vertical values of biological width reported on one-piece implants with a straight or flared transmucosal part (9).

Finally, our findings, when compared to the data published in the literature, suggest that the horizontal area of a concave transmucosal design increases the length and the surface area of contact at the tissue-implant interface, and thus reduces the vertical area required for the biological width.

In the present study, after 12 weeks of healing, the height of the epithelial tissue in the soft tissue interface was increased compared to previously reported data (Berglundh et al. 2007) (1). The epithelial compartment represented 74% of the transmucosal vertical dimensions, while it was about 60% in Berglundh's study (1), and about 55% (recalculated datum) in Hermann's study (9) on one-piece cylindrical implants with the rough/smooth border located at bone level or 1mm subcrestally. Looking closer, after 12 weeks of healing, the vertical value for the connective tissue compartment was short compared to previously reported data: 0.65mm versus about 1-1.5mm in the literature, while the height of the epithelium compartment was closer to previous findings (1.87mm versus 1.5-2mm). The concave transmucosal abutment may possibly lead to a reduction of the connective tissue compartment in relation with the concavity, thus resulting in a modification of the vertical distribution of epithelial and connective tissue, components of the biological width. Therefore, the old paradigm about the need for a sufficient height of implant/connective tissue contact to prevent bacterial invasion, epithelial downgrowth or mucosa mechanical breakdown might be jeopardized. Using a transmucosal concave design may change our way of thinking in terms of surface of contact rather than height of contact. Clinically, the rules for corono-apical positioning of the implants could be simplified. The opportunity to have a reduced biological width with lower connective tissue vertical values might allow a reduced depth positioning of the implant shoulder without the bone-remodeling associated with biological width reformation.

According to our findings, collagen fibers in the connective tissue run perpendicular to the abutment and form a soft tissue O-ring seal in the horizontal healing area provided by the transmucosal concavity, after 12 weeks, with a width of about 500µm in the transversal plane.

The presence of a circular organization of the collagen fibers around the transmucosal component has been reported in the literature for years, but the exact location of these fibers in relation to the abutment and the influence of the transmucosal design still remain unclear. Considering the previous studies on circular collagen bundle organization in the peri-implant connective tissue, Buser et al. described a 50 to 100µm wide zone of dense circular fibers close to the implant surface on cylindrical one-part implants after 3 months of unloaded healing (21). Ruggeri et al. introduced the concept of a peri-implant "circular-ligament" and reported the presence of circular collagen bundles in close contact with the implant neck of one-piece loaded implants in the monkey model (22). Rodriguez et al., in a preliminary histological study described collagen fibers in the connective tissue compartment that were oriented perpendicularly to the abutment and were organized circumferentially close to the implant surface on platform-switched implants (23). Degidi et al. described, in a human histologic case report on three loaded implants with a morse taper connection, collagen bundles that were oriented

perpendicularly to the abutment surface up to 200µm away from the titanium interface, and then form a tridimensional network around the abutment (24).

These data are in agreement with our results. Concave transmucosal profiles may increase the thickness of the circular peri-implant network, thus reinforcing the connective tissue adhesion to the titanium implant.

In the present study, after 12 weeks, the crestal remodeling and osseointegration processes were completed. New bone had established the most coronal contact with the implant body. These data are in agreement with those found in the literature. The osseointegration speed is closely related to the implant surface properties (25). In a histological study performed on the beagle dog, Berglundh (2003) observes that after 8 to 12 weeks of healing, the peri-implant bone is mature around sandblasted, large-grit and acid-etched (SLA® Straumann®) implants (26). For sandblasted implants, a 12 weeks healing period allows to obtain an adequate osseointegration (27, 28).

With regards to peri-implant marginal bone levels, our results show that the first bone-to-implant contact was located at the implant shoulder after 3 weeks, and 0.18mm above after 12 weeks. Bone apposition occurred on the implant shoulder during the healing period up to the coronal limit of the sandblasted surface. These findings are in agreement with previous results after 12 weeks of healing. According to Hermann et al., the first bone-to-implant contact on one-piece implants was positioned at the level of the rough/smooth border (7, 10). Kim et al. reported a first bone-to-implant contact located 0.03mm under the implant shoulder on one-piece implants with a concave transmucosal profile (14). Huh et al. reported a reduced amount of bone resorption on concave transmucosal profiles compared to straight profiles: 0.60mm versus 1.44mm below the implant shoulder (15).

The BC-/BIC was -0.93mm after 3 weeks of healing and -0.72mm after 12 weeks. The vertical distances between the top of the bone crest and the first bone-to-implant contact were related to the positioning depth of the rough/smooth border (about 1mm). According to the results of numerous studies, a subcrestal placement of the implant shoulder was associated with crestal bone remodeling (29, 30).

Thus, the concave transmucosal design allowed for bone integration on the implant shoulder without any bone loss due to biological width reformation. It may also promote the convergence of the collagen bundle towards the implant collar and the formation of a thick circular collagen O-ring within the abutment concavity. This mechanical interlocking of the implant at the connective tissue level might improve the mechanical resistance of the connective adhesion to the titanium. The clinical implication of these findings is the following: good integration of the peri-implant tissues during early healing is a key factor for success, in order to achieve long term healthy mucosa and stable mucosa dimensions, thus preventing peri-implantitis and aesthetic failures.

In conclusion, the main observations collected from the present study on peri-implant marginal tissue healing around one-piece implants with a concave transmucosal profile are the following:

- 1 - After 3 weeks the mucosal and peri-implant bone healing was still on-going, while at 12 weeks epithelium, connective tissue and bone were mature,
- 2 - Vertical values of biological width were shorter on concave transmucosal implants compared to existing data after 3 and 12 weeks of healing,
- 3 - A soft tissue O-ring seal in the horizontal healing area provided by the transmucosal concavity was observed in the connective tissue compartment after 12 weeks of healing,
- 4 - Some bone apposition occurred on the implant shoulder during the healing.

Further studies are needed to corroborate the present findings. The absence of a control group does not allow us to draw a final conclusion. It might be interesting to set up a comparative study between one-part implants with straight, concave and flared transmucosal designs with various positioning depths in relation to the bone crest, in order to confirm these results. Other parameters may also be considered such as: modified surface properties and micro-grooves on the transmucosal part of the implant, which, according to the literature, seem to provide a strong connective tissue adhesion to the titanium surface.

Within the limits of the present study, a concave transmucosal design was associated with a short vertical value of biological width, and promoted a mechanical interlocking of the implant body at the connective tissue and marginal bone levels.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We address our special thanks to Dr Jean-François Borel, Dr Philippe Duchatelard and the late Dr Yves Douillard original co-designers of the TwinKon® implant with the Tekka® Global D Society, Brignais, France.

We appreciated the precious advise of Dr Carole Auger and Dr Hélène Follet. We are also grateful for the collaboration of the Tekka® Global D team.

## **REFERENCES**

1. Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, et al. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. Clin Oral Implants Res. 2007; 18:1-8.
2. Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited. J Clin Periodontol. 1996; 23:971-973.
3. King GN, Hermann JS, Schoolfield JD, et al. Influence of the size of the micro-gap on crestal bone levels in non-submerged dental implants: a radiographic study in the canine mandible. J Periodontol. 2002;73:1111-1117.

4. Broggini N, McManus LM, Hermann JS, et al. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2006;85:473-478.
5. Zipprich H, Weigl P, Lange B, et al. Micromovements at the Implant-Abutment Interface: Measurement, Causes, and Consequences. *Implantol*. 2007;15:31-46.
6. Hermann JS, Cochran DL, Nummikovski PV, et al. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 1997;68:1117-1130.
7. Hermann JS, Buser D, Schenk RK, et al. Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 2000;71:1412-1424.
8. Weng D, Nagata MJ, Bell M, et al. Influence of microgap location and configuration on radiographic bone loss around submerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26:941-946.
9. Hermann JS, Buser D, Schenk RK, et al. Biologic width around one and two-piece titanium implants. A histometric evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res*. 2001;12:559-571.
10. Hermann JS, Jones AA, Bakaeen LG, et al. Influence of a machined collar on crestal bone changes around titanium implants: a histometric study in the canine mandible. *J Periodontol*. 2011;82:1329-1338.
11. Touati B, Rompen E, Van Dooren E. A new concept for optimizing soft tissue integration. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2005;17:711-712,714-715.
12. Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006;26:9-17.
13. Rompen E, Raepsaet N, Domken O, et al. Soft tissue stability at the facial aspect of gingivally converging abutments in the esthetic zone: a pilot clinical study. *J Prosthet Dent*. 2007;97:S119-S125. Erratum in: *J Prosthet Dent*. 2008;99(3):167.
14. Kim S, Oh KC, Han DH, et al. Influence of transmucosal designs of three one-piece implant systems on early tissue responses: a histometric study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25:309-314.
15. Huh JB, Rhee GB, Kim YS, et al. Influence of implant transmucosal design on early peri-implant tissue responses in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25:962-968.
16. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, et al. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8:e1000412.
17. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol*. 1982;11:318-326.
18. Boivin G, Meunier PJ. Histomorphometric methods applied to bone. In: Grupe G, Garland AN (eds.) *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis*. Berlin : Springer Verlag, 1993:137-156.
19. Cohen J. The concepts of power analysis. In: Cohen J, *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed.). Hillsdale, NJ: Erlbaum, 1988 ; 1-17.
20. Finelle G, Papadimitriou DEV, Souza AB, et al. Peri-implant soft tissue and marginal bone adaptation on implant with non-matching healing abutments: micro-CT analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2015; 26: e42-e46.



21. Buser D, Weber HP, Donath K, et al. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J Periodontol.* 1992;63:225-235.
22. Ruggeri A, Franchi M, Marini N, et al. Supracrestal circular collagen fiber network around osseointegrated nonsubmerged titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3:169-175.
23. Rodriguez X, Vela X, Calvo-Guirado JL, et al. Effect of Platform switching on collagen fiber orientation and bone resorption around dental implants: a preliminary histologic animal study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012;27:1116-1122.
24. Degidi M, Piatelli A, Scarano A, et al. Peri-implant collagen fibers around human cone Morse connection implants Under polarized light: a report of three cases. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012;32(3):323-328.
25. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20 (suppl 4):172-184.
26. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, et al. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. A model study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14:251-262.
27. Froum S, Tarnow D, Jalbout Z, et al. Histological evaluation of the Serf EVL evolution, implant: a pilot study in a dog model. *Implant Dent.* 2003;12(1):69-74.
28. Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C, et al. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Clin Oral Implants Res.* 1998;9(1):11-19.
29. Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. Subcrestal placement of two-part implants. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20:226-231.
30. Cochran DL, Bosshardt DD, Grize L, et al. Bone response to loaded implants with non-matching implant-abutment diameters in the canine mandible. *J Periodontol.* 2009;80:609-617.

TABLE

Implant group	(n)	IS- <i>f</i> BIC	BC- <i>f</i> BIC	IS-BC
3 weeks	24	<b>0.00</b> (0.43)	<b>-0.93</b> (0.61)	<b>0.93</b> (0.64)
12 weeks	24	<b>0.18</b> (0.12)	<b>-0.72</b> (0.44)	<b>0.89</b> (0.47)
Implant group	(n)	PM-aJE	aJE- <i>f</i> BIC	PM- <i>f</i> BIC
3 weeks	21	<b>1.36</b> (0.42)	<b>1.42</b> (0.50)	<b>2.78</b> (0.57)
12 weeks	24	<b>1.87</b> (0.51)	<b>0.65</b> (0.14)	<b>2.52</b> (0.47)
Implant group	(n)	PM-aJE length	aJE- <i>f</i> BIC length	PM- <i>f</i> BIC length
3 weeks	21	<b>1.58</b> (0.53)	<b>1.62</b> (0.62)	<b>3.20</b> (0.59)
12 weeks	24	<b>2.38</b> (0.53)	<b>0.69</b> (0.15)	<b>3.07</b> (0.48)
Implant group	(n)	d(I/h) PM-aJE	d(I/h) aJE- <i>f</i> BIC	d(I/h) PM- <i>f</i> BIC
3 weeks	21	<b>0.22</b> (0.18)	<b>0.20</b> (0.19)	<b>0.42</b> (0.19)
12 weeks	24	<b>0.51</b> (0.07)	<b>0.05</b> (0.03)	<b>0.55</b> (0.09)
Data are expressed in mm, as average and standard deviation, (n) = number of measured sites, $\longleftrightarrow$ $p \leq 0.05$				

*Tab. 1.* Results from the histomorphometric measurements of the epithelial tissue (PM-aJE); connective tissue (aJE-*f*BIC); biological width (PM-*f*BIC); peri-implant crestal and marginal bone levels (IS-*f*BIC, BC-*f*BIC, IS-BC).

## FIGURES



Fig. 1. The TwinKon® implant has a one-piece design with a concave transmucosal neck.

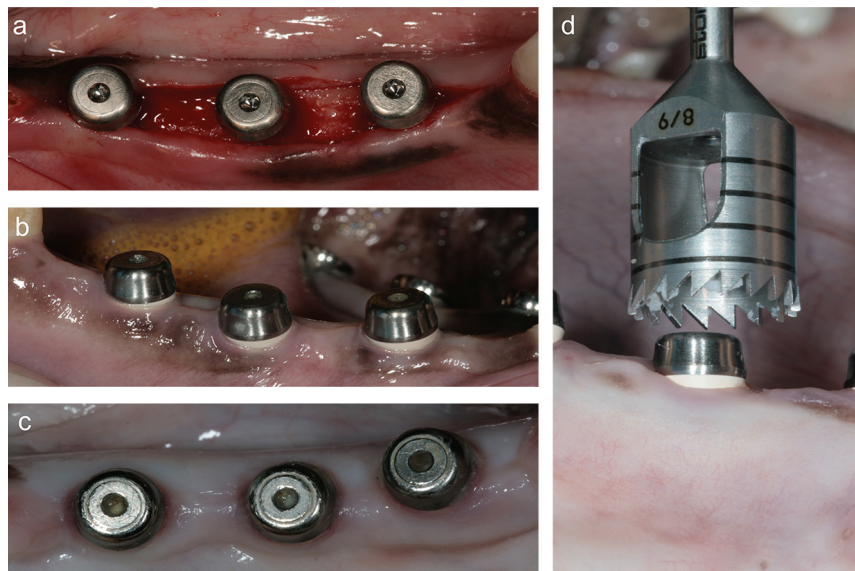


Fig. 2. Implants in the left side of the alveolar mandibular ridge: (a) after insertion, (b) after 3 weeks of healing, (c) after 12 weeks of healing and (d) harvesting with a trephine.

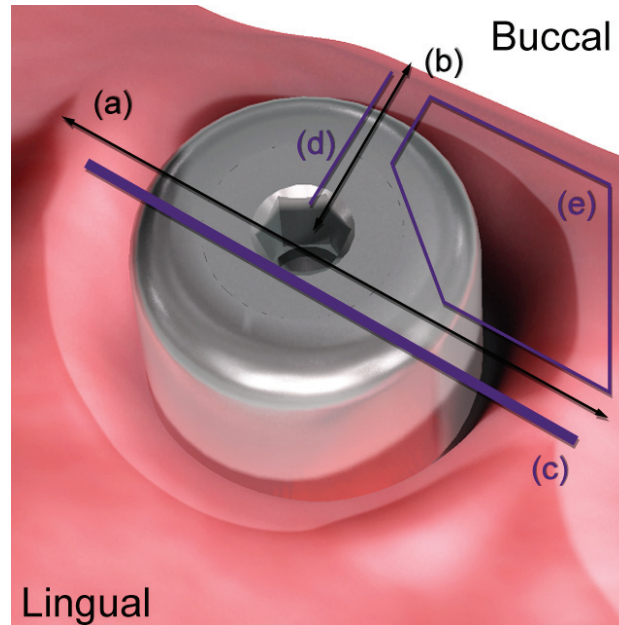


Fig. 3. Sectional drawing used for the histological process: (a) mesio-distal section, (b) bucco-lingual section of the buccal remaining bloc, (c) mesio-distal ground section (modified Paragon staining), (d) vertical buccal thin (Goldner trichrome staining) and ultra-thin sections, (e) horizontal proximo-buccal thin section (toluidine blue staining).

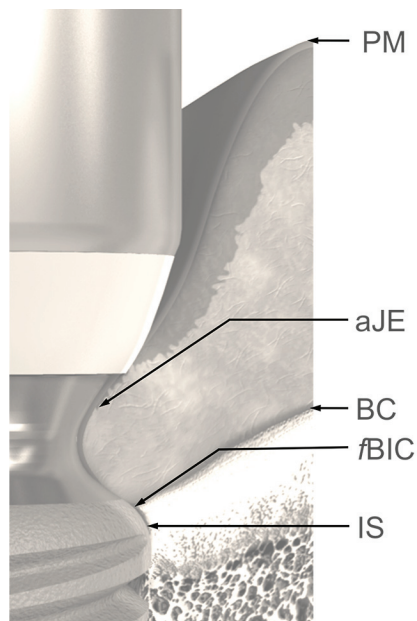


Fig. 4. Landmarks used for the histomorphometric measurements: the implant shoulder (IS), the first bone-to-implant contact (fBIC), the top of the bone crest (BC), the marginal portion of the mucosa (PM) and the apical extent of the junctional epithelium (aJE).

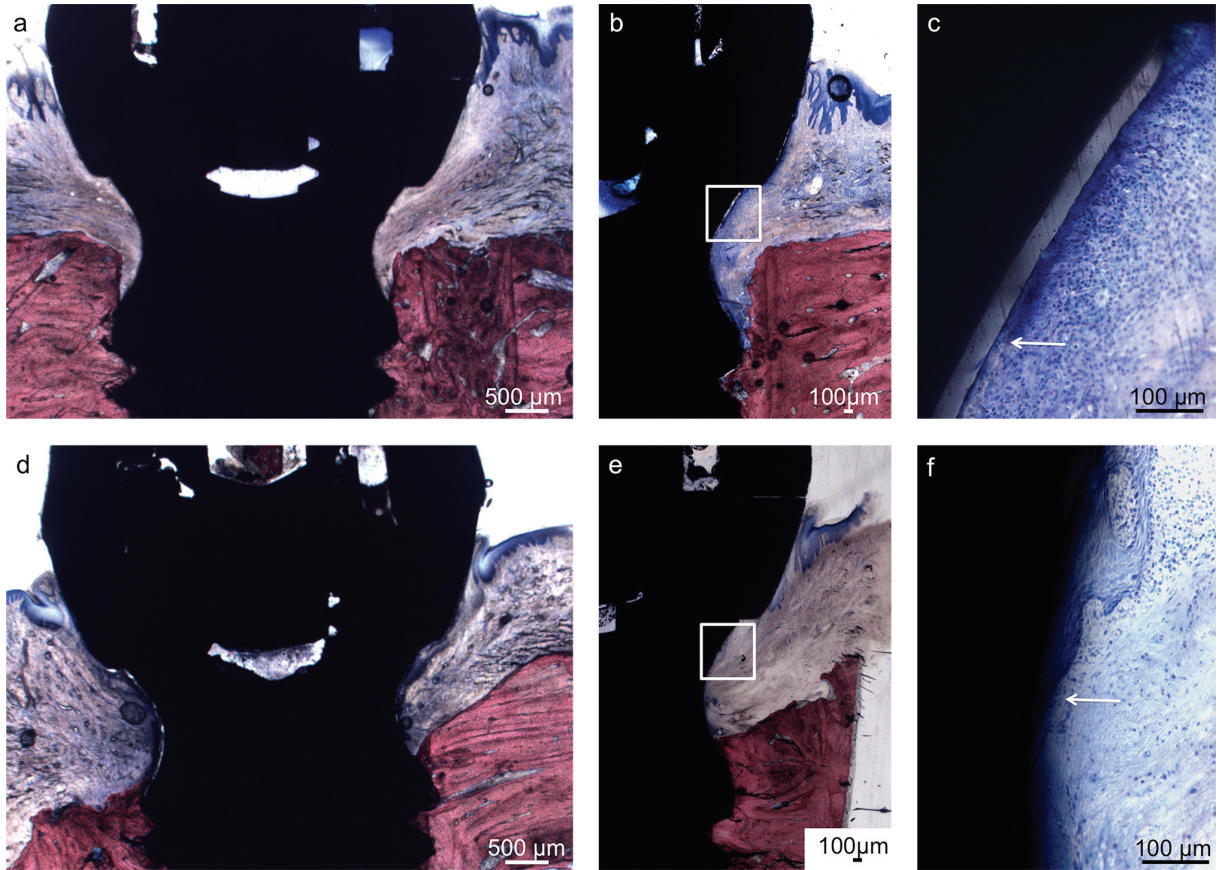
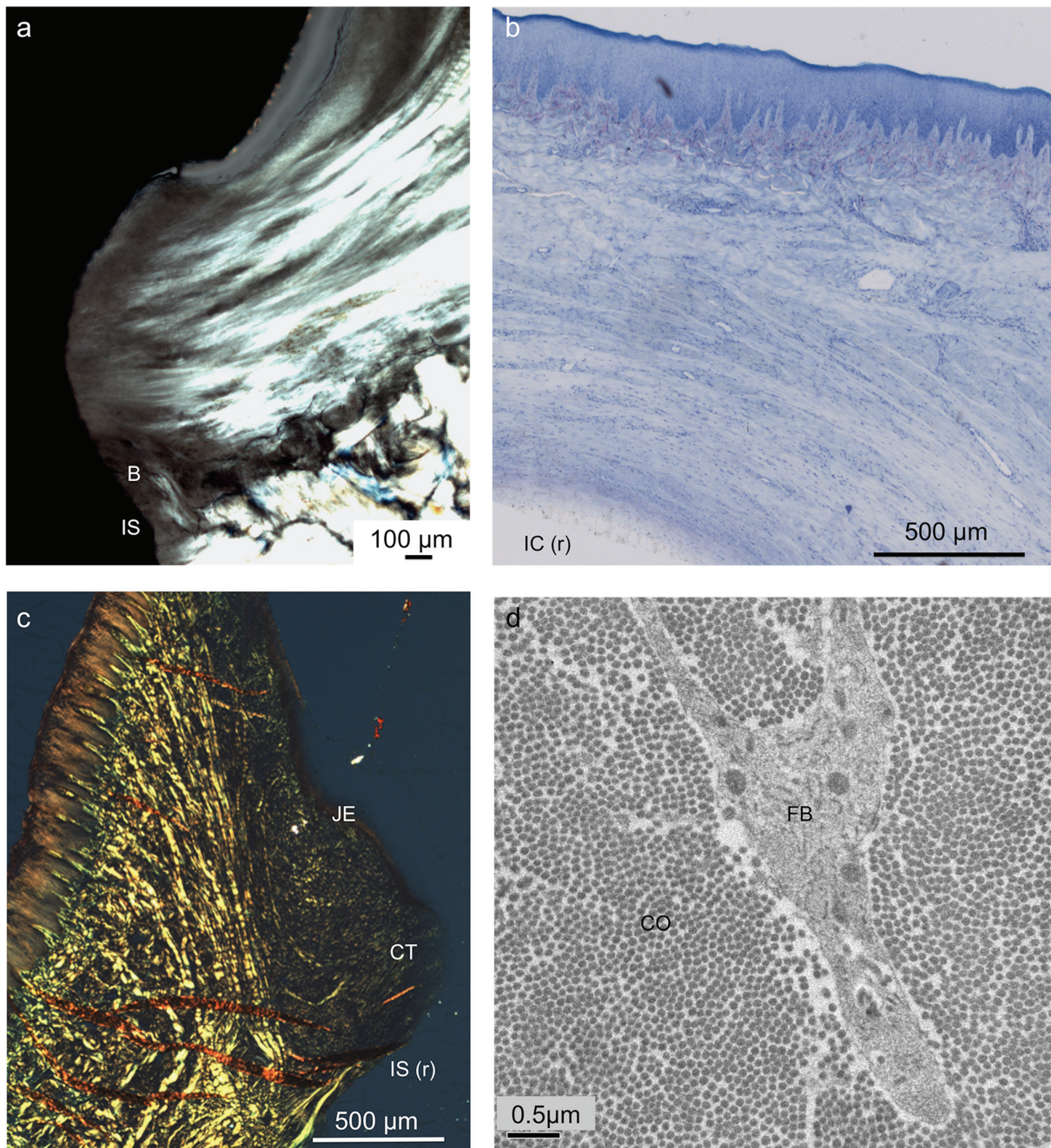


Fig 5. Ground non-decalcified mesio-distal sections. (a), (b), (c) details of (b) After 3 weeks of healing, a non-keratinized junctional epithelium is observed facing the titanium surface. (d), (e), (f) details of (e) After 12 weeks of healing, the junctional epithelium was in close contact with the titanium surface, a dense connective tissue was interposed between the apical extent of the junctional epithelium and the most coronal bone-to-implant contact. Light microscopy, modified Paragon staining. White arrow: apical extend of the junctional epithelium.





**Fig. 6.** Organization of collagen fibers within the connective tissue after 12 weeks of healing. (a) In the connective tissue located outside the implant concavity, collagen fibers are inserted into the crestal bone and run perpendicularly to the abutment, light polarized microscopy, modified Paragon staining, ground non-decalcified vertical mesio-distal section, IS: implant shoulder, B: peri-implant marginal bone. (b) Closer to the implant surface, a concentric organization of the collagen fibers was observed with a width of about 500μm in the transversal (horizontal) plane around the concave part, light microscopy, thin proximo-buccal horizontal section, toluidine blue staining, IC (r): implant collar removed. (c) In the implant collar concavity, thin vertical buccal sections showed collagen fibers cut transversely in the connective tissue, light polarized microscopy, Goldner trichrome staining, JE: junctional epithelium, CT: connective tissue, IS (r): implant shoulder removed (d) In the connective tissue close to the implant collar, ultra-thin vertical buccal section showed collagen fibers cut transversely, electron micrograph, CO: collagen fiber, FB: fibroblast.

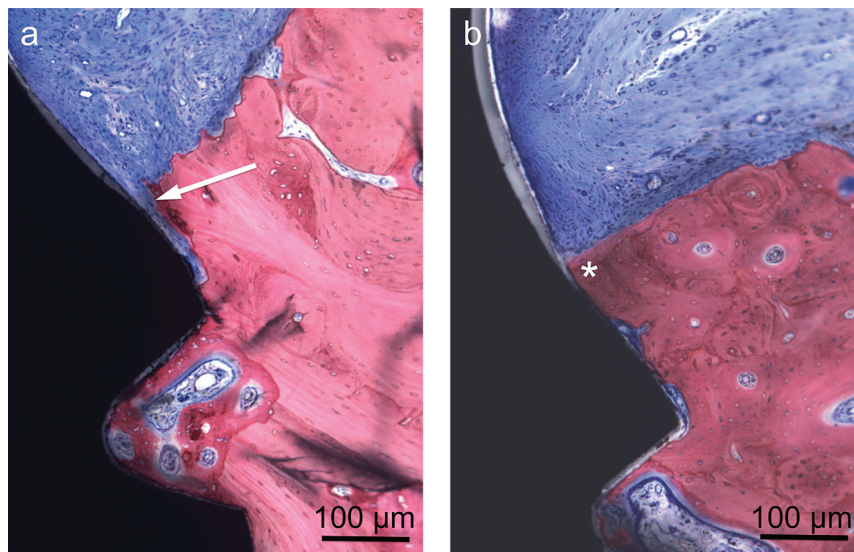


Fig. 7. Marginal bone healing. (a) After 3 weeks, the first pitch of the implant thread was in contact with the old bone bed (light pink). Woven bone (dark pink) was observed along the old bone bed. (b) After 12 weeks, the new bone had established the most coronal contact with the implant body. Light microscopy, modified Paragon staining, mesio-distal non-decalcified ground sections. White arrow = old bone bed, yellow star = woven bone.

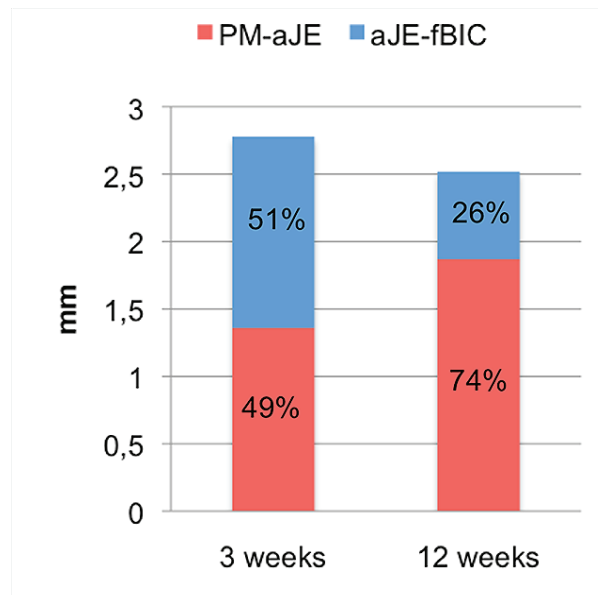


Fig. 8. Histogram representing the vertical distribution of the tissue above the implant shoulder after 3 and 12 weeks of healing. Epithelial (red) and connective (blue) tissues, dimensions expressed in mm.



## 3<sup>ème</sup> PARTIE

### Réflexion analytique - Discussion

#### I / INTERET DE L'EXPERIMENTATION ANIMALE EN IMPLANTOLOGIE

---

##### I.1 Apport des données pré-cliniques en implantologie

Depuis l'apparition de l'implantologie orale, un grand nombre d'études histologiques ont été conduites chez l'animal pour comprendre les mécanismes biologiques conduisant à l'ostéointégration et à l'adaptation de la muqueuse sur les implants. Ces études ont également permis de mettre en évidence certains facteurs limitants : états de surface lisses, connectiques non-étanches (...).

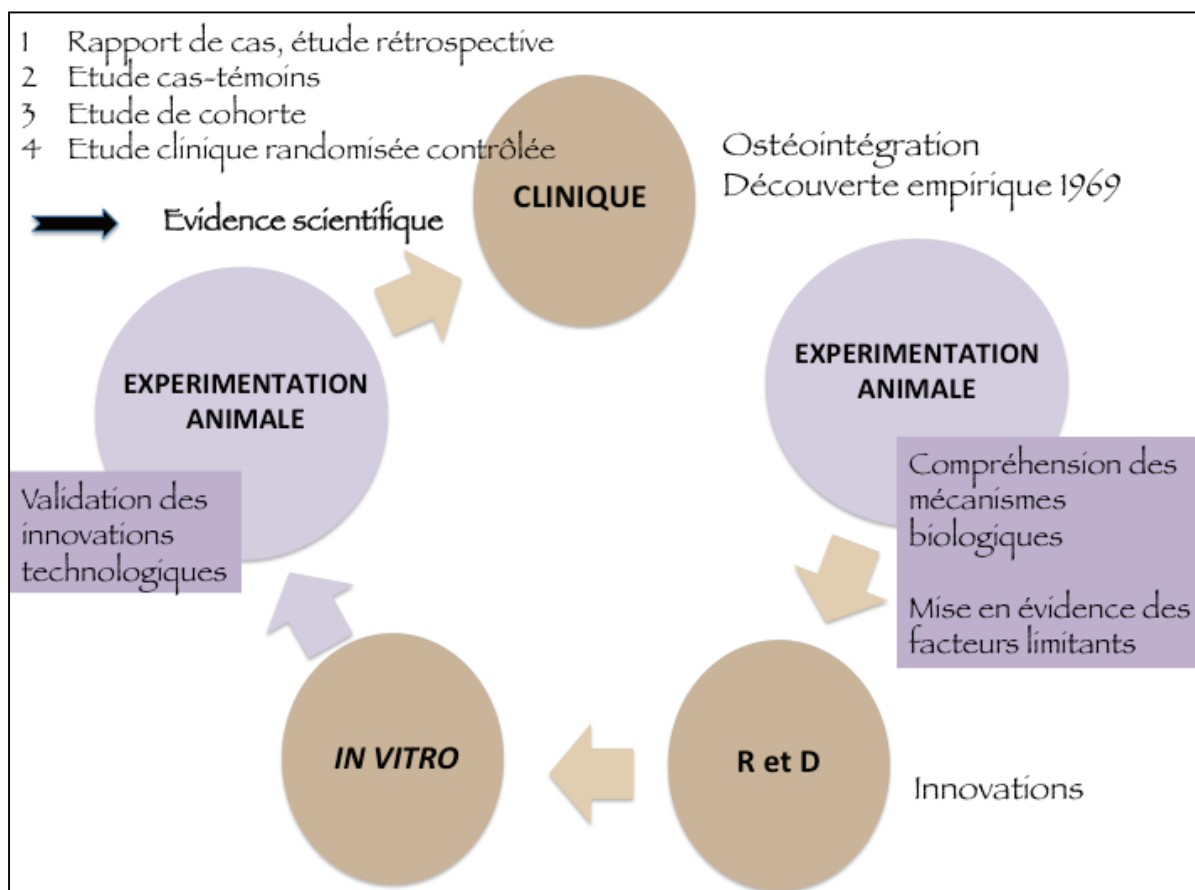
Ces données ont permis de faire évoluer les systèmes implantaires par le biais du développement industriel. Les innovations qui ont découlé de l'analyse des données pré-cliniques ont suivi ensuite le schéma classique de validation scientifique par le biais de la recherche.

La recherche *in vitro* constitue le niveau de preuve scientifique le plus faible : cultures cellulaires, tests biomécaniques,... sont les premiers éléments de validation des nouveaux concepts implantaires.

La recherche pré-clinique chez l'animal apporte ensuite des données histologiques qui permettent de comprendre les mécanismes biologiques et de mettre en évidence les possibles effets adverses des dispositifs implantables.

Lorsque les données issues de la recherche fondamentale *in vitro* et *in vivo* pré-clinique montrent des résultats encourageants, la réalisation d'études cliniques est alors nécessaire pour obtenir des niveaux de preuve plus élevés : du plus faible (niveau 4) : série de cas, au plus fort : étude contrôlée randomisée de forte puissance et méta-analyses d'essais cliniques randomisés (niveau 1), qui permettent d'établir à la fin du processus de recherche un véritable niveau de preuve et d'émettre le cas échéant des recommandations (*Analyse de la littérature et gradation des recommandations*, HAS, 2000).

Les études histologiques chez l'animal apportent des informations nécessaires. Elles permettent d'une part de comprendre les mécanismes biologiques mis en jeu et de mettre en évidence les limitations des protocoles cliniques et systèmes implantaires. Et elles participent d'autre part à la validation scientifique des innovations issues de la recherche et du développement menés par les industries souvent en collaboration avec la recherche universitaire (fig. 35).



**Fig. 35** Diagramme illustrant la place de l'expérimentation animale en implantologie dans le schéma de validation scientifique par le biais de la recherche.

## I.2 Considérations éthiques

L'ensemble de la communauté médicale et scientifique promeut la prise en compte du bien-être de l'animal et son respect en tant qu'être vivant et sensible, l'application de la règle des 3-R (Richmond 2000) et l'optimisation des données issues de la recherche chez l'animal via l'utilisation des guidelines ARRIVE (Kilkenny *et al.* 2010).

### I.2.1 La règle des 3 R : réduire, raffiner, remplacer (Richmond 2000)

Elaborée en 1959, elle constitue le fondement de la démarche éthique appliquée à l'expérimentation animale en Europe et en Amérique du Nord.

Elle comprend les points suivants :

- **Réduire** le nombre d'animaux en expérimentation,
- **Raffiner** la méthodologie utilisée, ce qui implique la notion de points limites (« end-points »),
- **Remplacer** les modèles animaux.

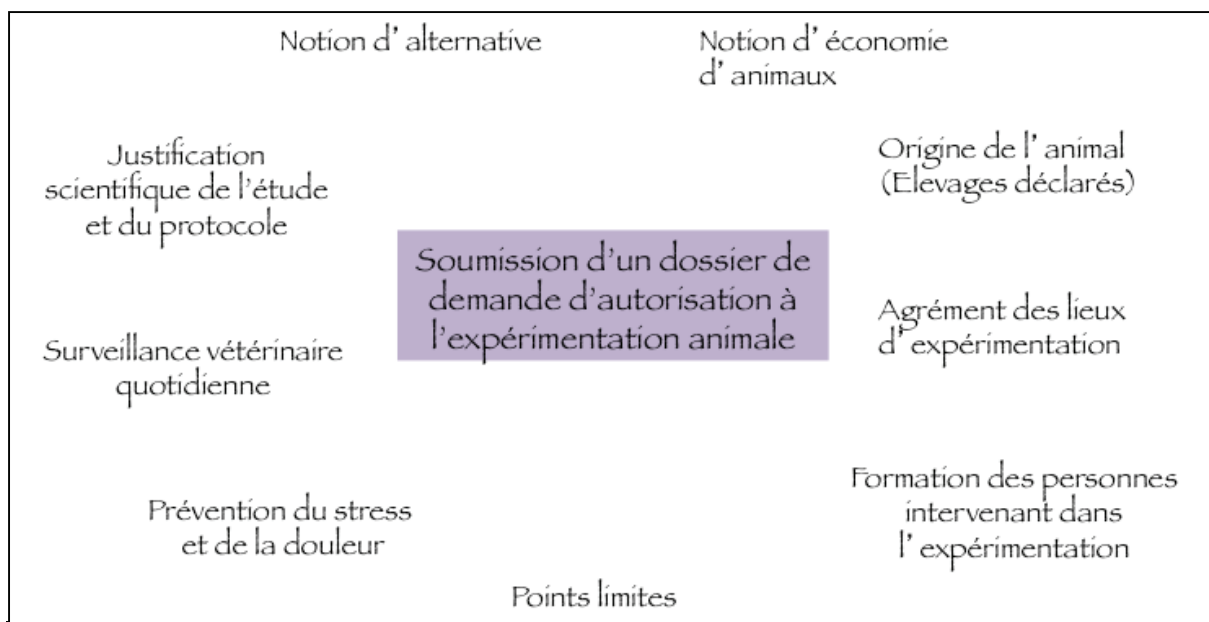
Ce concept a été progressivement adopté par diverses institutions pour fixer des lignes de conduite pour l'expérimentation animale, et a été introduit dans la réglementation par :

- le Conseil de l'Europe (convention STE N° 123),
- l'Union européenne (directive n° 2010/63/UE),
- et la France (décret n° 2013-118 du 1er février 2013 ; charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale relative à l'article R-214-122 du Code rural).

### I.2.2 Autorisation à l'expérimentation animale

L'autorisation de réaliser une étude pré-clinique est donnée par le comité d'éthique rattaché à la structure d'accueil. De nombreux points sont à justifier et renseigner (fig. 36) dont les plus importants sont les suivants :

- pertinence de l'étude et du protocole d'analyse
- notion d'alternative : n'existe-t-il pas une autre méthode pour obtenir ces informations ?
- calcul du nombre d'animal : le plus petit nombre nécessaire à l'obtention de résultats statistiquement significatifs (utilisation d'outils statistiques)
- les stades douloureux et les mesures prises pour prévenir la douleur
- critères d'exclusion ou « points limites »



**Fig. 36** Diagramme récapitulatif des éléments à justifier dans le dossier de demande d'autorisation à l'expérimentation animale auprès du comité d'éthique rattaché à la structure d'accueil.

### I.2.3 Guidelines ARRIVE (Kilkenny *et al.* 2010)

Une large revue de littérature, concernant toutes les études pré-cliniques réalisées chez l'animal dans toutes les disciplines de la médecine et de la science, a constaté que de manière générale, de sérieuses omissions sont retrouvées dans la description des protocoles expérimentaux (Kilkenny *et al.* 2009). Ces omissions constituent un frein majeur pour comparer les études entre elles et les utiliser afin d'obtenir des niveaux de preuve scientifiques satisfaisants. Pour des raisons scientifiques, éthiques mais également financières, les auteurs insistent sur la nécessité d'améliorer la qualité scientifique des publications.

L'année suivante, les guidelines ARRIVE (**A**nimals in **R**esearch: **R**eporting **I**n **V**ivo **E**xperiments) ont été proposées afin d'améliorer la manière dont sont rapportées les résultats des études chez l'animal et optimiser ainsi leur valeur scientifique (Kilkenny *et al.* 2010). Ces guidelines, constitués d'une liste de 20 items, décrivent le minimum d'informations que toutes les publications scientifiques doivent rapporter. Elles comprennent entre autres : le nombre et les caractéristiques du modèle animal utilisé, les détails de l'hébergement et des soins apportés aux animaux, le calcul de l'échantillon, les procédures de randomisation, les détails du protocole expérimental et de l'analyse statistique. Elles sont en fait utilisées non pas seulement *a posteriori* pour rapporter les résultats des études dans les publications mais également *a priori* pour construire les protocoles expérimentaux et planifier les études.

Depuis, une revue systématique évaluant la qualité des publications pré-cliniques chez l'animal en implantologie (Vignoletti et Abrahamsson 2012) a mis en évidence que 43 % des publications ne contiennent aucune information sur l'aspect éthique des études, 56% sur les procédures de randomisation, 67 % sur les conditions de vie des animaux, 98% sur le calcul de la taille de l'échantillon, 62% sur l'unité statistique utilisée, 77% sur le choix et la validation de la méthode statistique. Les auteurs ont conclu à un manque évident de protocoles standardisés pour la mise en œuvre des études expérimentales en implantologie. Ces auteurs ont proposé une version modifiée des guidelines ARRIVE pour les adapter aux particularités des études histologiques en implantologie (tab. 1).

Un récent rapport de consensus recommande d'utiliser les guidelines ARRIVE ou leur version modifiée pour planifier les études et rapporter les résultats des études histologiques réalisées chez l'animal (Berglundh et Stavropoulos 2012) afin d'améliorer la qualité des publications scientifiques.

Title	1	0. poor 1. adequate 2. good	Provides as accurate and concise a description of the content of the article as possible.
Abstract	2	0. poor 1. adequate 2. good	Provides an accurate summary of the background, research objectives, including details of the species or strain of animal used, key methods, principal findings and conclusions of the study.
Introduction Background	3	0. poor 1. adequate 2. good	Includes sufficient scientific background to understand the motivation and context for the study, and explains the experimental approach and rationale. Explains how and why the animal species and model being used can address the scientific objectives and, where appropriate, the study's relevance to human biology.
Objectives	4	0. poor 1. adequate	Describes clearly the objectives of the study, or specific hypotheses being tested.
Methods			
Ethical statement	5	0. no 1. yes	Contains information about the ethical review permissions, relevant licenses and national or institutional guidelines for the care and use of animals, that cover the research.
Study design	6	0. no a, 1. yes b	Provides brief details of the study design including: a. The number of experimental and control groups. b. Any steps taken to minimize the effects of subjective bias when allocating animals to treatment (e.g. randomization procedure) and when assessing results (e.g. if done, describe who was blinded and when).
Experimental procedures	7	0. no a, 1. yes b,c	Provides precise details of all procedures carried out, for each experiment and each experimental group, including controls. a. Surgical/clinical procedures b. Histological processing and analysis c. Test device/material description
Experimental animals	8	0. no 1. yes	Provides details of the animals used, including species, strain, sex, developmental stage and weight.
Housing and husbandry	9	0. no 1. yes	Provides details of housing and husbandry conditions
Sample size	10	0. no a, 1. yes b	a. Specifies the total number of animals used in each experiment, and the number of animals in each experimental group. b. Explains how the number of animals was arrived at. Provides details of any sample size calculation used.
Experimental outcomes	11	0. no 1. yes	Defines clearly the primary and secondary experimental outcomes assessed
Statistical methods	12	0. no a, 1. yes b,c	a. Provides details of the statistical methods used for each analysis. b. Specifies the unit of analysis for each dataset c. Describes methods used to assess whether the data met the assumptions of the statistical approach.
Results			
Numbers analysed	13	0. no 1. yes	The number of animals in each group included in each analysis is reported. If any animals or data were not included in the analysis, an explanation is provided.
Outcomes and estimation	14	0. no 1. yes	Reports the results for each analysis carried out, with a measure of precision (e.g. standard error or confidence interval).
Adverse events	15	0. no 1. yes	Adverse events in each experimental group are reported. Describes any modifications to the experimental protocols made to reduce adverse events.
Discussion			
Interpretation/ scientific implications	16	0. poor 1. adequate 2. good	Interprets the results, taking into account the study objectives and hypotheses, current theory and other relevant studies in the literature. Comments on the study limitations including potential sources of bias, limitations of the animal model, and the imprecision associated with the results.
Generalisability/ translation	17	0. no 1. yes	Comment on whether, and how, the findings of this study are likely to translate to other species or systems, including any relevance to human biology.
Funding	18	0. no 1. yes	Provides information of funding sources and any conflict of interest.

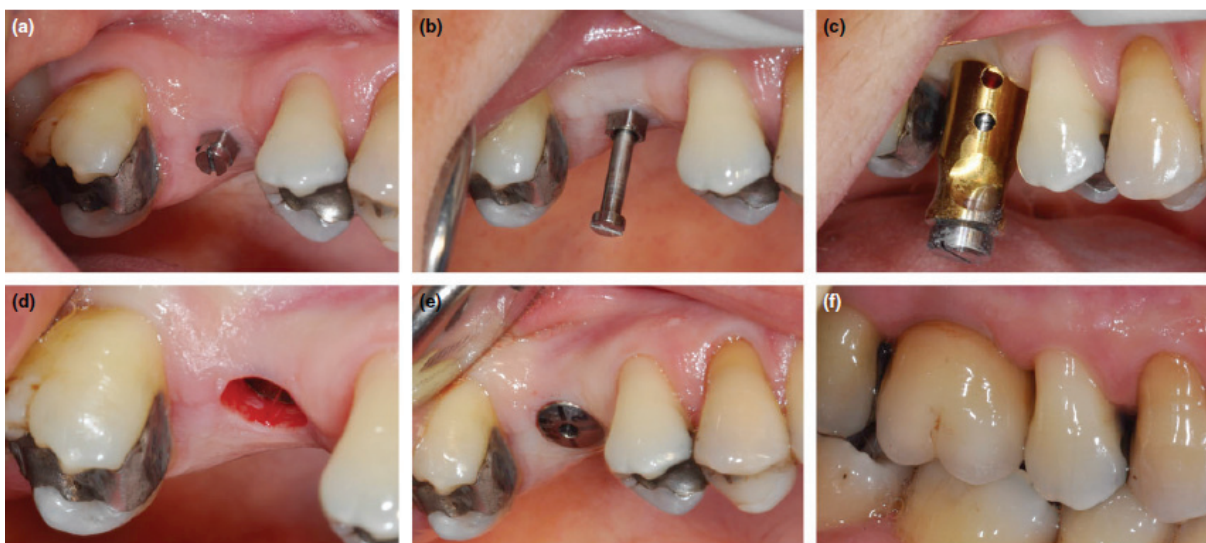
**Tab. 1** Version modifiée des guidelines ARRIVE (Vignoletti et Abrahamsson 2012).

#### I.2.4 Notion d'alternative : recherche de nouveaux modèles

L'essentiel des connaissances actuelles sur les processus biologiques conduisant à la cicatrisation des tissus péri-implantaires provient d'études histologiques chez l'animal et seulement 2% des études histologiques existantes sont réalisées chez l'Homme (Vignoletti et Abrahamsson 2012). Le plus souvent ces données proviennent de biopsies réalisées lors d'échec du traitement implantaire nécessitant la dépose des implants.

Le modèle animal présente l'avantage certain de permettre d'effectuer une biopsie complète des tissus durs et mous péri-implantaires ce qui est impossible chez l'Homme du fait du délabrement tissulaire engendré. Ces résultats sont extrapolés à l'Homme. Cependant, il est établi dans un récent rapport de consensus que « les modèles animaux ne peuvent pas complètement recréer l'anatomie, la physiologie, l'environnement biomécanique, fonctionnel ou pathologique de la condition clinique humaine » (Berglundh et Stavropoulos 2012).

Tomasi *et al.* (2014) proposent un nouveau modèle humain comme une alternative aux études pré-cliniques *in vivo* chez l'animal et suggèrent que l'utilisation de ce modèle présente des avantages en terme d'éthique et de coût (biologique) / bénéfice ou « rentabilité biologique ». Ces auteurs ont prélevé une petite collerette de muqueuse péri-implantaire autour de piliers expérimentaux personnalisés, créés pour les besoins de l'étude (fig. 37). Cette méthode leur a permis de réaliser une analyse histologique de qualité avec préservation de l'interface sans compromettre le succès du traitement implantaire. D'autres auteurs proposent l'utilisation de mini-implants ou la réalisation de biopsies des tissus mous péri-implantaires (Glauser *et al.* 2005 ; Schupbach et Glauser 2007, Van Brakel *et al.* 2012).



**Fig. 37** Photographies de la réalisation d'une biopsie de tissus mous péri-implantaires attachés au pilier expérimental de faible diamètre par une technique de punch (a,b,c,d) et mise en place de la vis provisoire (e) de diamètre adapté à la future restauration (f) (Tomasi *et al.* 2014).



Ces modèles constituent une alternative possible à l'expérimentation animale pour l'analyse des tissus mous péri-implantaires compte-tenu du caractère faiblement invasif de ce type de prélèvement. Ils pourraient trouver des applications dans les voies de recherches actuelles visant à améliorer le processus de cicatrisation et la qualité de l'attache de la muqueuse péri-implantaire. La grande limitation de ce modèle réside néanmoins dans l'impossibilité de prélever l'os marginal péri-implantaire.

## II / DISCUSSION DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL

---

Dans cette partie, les décisions prises lors de l'élaboration du protocole sont discutées. Elles sont le fruit d'une réflexion menée en amont de la phase d'expérimentation animale et ont été prises en fonction des données de la littérature scientifique disponibles au début de ce travail, et dans le respect de la charte d'éthique de l'expérimentation animale.

### II.1 Modèle animal

Le chien Beagle présente des similarités osseuses avec l'Homme (tab. 2) en termes de microstructure, macrostructure, composition et remodelage osseux (Pearce *et al.* 2007). Son caractère sociable et son poids moyen le rendent aisé à manipuler sans avoir recours à la sédation pour les manipulations d'hygiène orale et de contrôle de cicatrisation.

	Chien	Brebis/Chèvre	Cochon	Lapin
Macrostructure	++	+++	++	+
Microstructure	++	+	++	+
Composition	+++	++	+++	++
Remodelage	++	++	+++	+

**Tab. 2** Similitudes entre l'os humain et l'os animal (Pearce *et al.* 2007).

Le modèle canin constitue le gold standard en implantologie, l'immense majorité des études pré-cliniques citées dans ce travail utilisent ce modèle. L'utilisation d'un modèle expérimental identique rend plus aisée l'interprétation et la mise en relation des résultats avec ceux de la littérature.



L'utilisation d'un autre modèle : le cochon a été envisagée. Cet animal présente d'importantes similarités osseuses avec l'Homme, mêmes meilleures que celles du chien en ce qui concerne le remodelage osseux (Pearce *et al.* 2007). Cependant, la taille et le poids (200 kg) du porc fermier adulte compliquent le déplacement des animaux et la réalisation des chirurgies. Un autre modèle, le mini-pig, est de taille plus adaptée mais son caractère craintif rend difficile les manipulations d'hygiène orale et de contrôle clinique qui doivent se faire sous sédation. La toxicité des injections sédatives répétées rend obligatoire un espacement conséquent des séances de maintenance et de contrôle clinique, préjudiciable à la qualité de l'étude.

## **II.2 Protocole chirurgical**

### II.2.1 Modalités du protocole

Les protocoles chirurgicaux en un-temps et en deux-temps chirurgicaux permettent d'obtenir des résultats comparables en terme d'ostéointégration et n'ont pas d'incidence sur le processus de remodelage osseux marginal (Boili *et al.* 2001, Hermann *et al.* 1997, 2000-b). De plus, la pose de l'implant une-part (TwinKon®) suppose nécessairement une procédure en un temps chirurgical. Ainsi, dans le but d'harmoniser les procédures mais également de raccourcir la durée de l'étude le protocole en un temps chirurgical a été retenu pour le système implantaire deux-parts (In-Kone®).

Du fait de l'influence certaine de l'implantation immédiate sur les valeurs de l'espace biologique (Araújo *et al.* 2005, 2006), et de la complexité de réalisation de la prothèse chez le chien, les protocoles d'extraction / implantation immédiate et de mise en charge immédiate ou différée ont été écartés. En l'absence de données histologiques de référence sur les implants testés, l'accumulation des facteurs pouvant influencer la cicatrisation n'est pas souhaitable car elle complique l'analyse des résultats et la détermination du ou des facteurs étiologiques, que les résultats soient positifs ou négatifs. Un protocole classique d'implantation sur crête édentée cicatrisée a donc été choisi afin de recueillir des informations relatives aux protocoles chirurgicaux de base et de constituer une banque de données de référence pour la suite des recherches effectuées concernant ces systèmes implantaires.

### II.2.2 Répartition des implants sur l'arcade

Tous les implants du même type ont été posés du même côté de l'arcade pour un même chien, à droite ou à gauche. Les deux types d'implants ne sont pas positionnés sur un même côté de l'arcade afin que le remodelage osseux intervenant autour d'un système implantaire n'influe pas sur le remodelage osseux de l'autre système. Pour des raisons identiques, sur la crête au sein d'un même groupe, les implants sont posés à une distance minimale de 10 mm les uns des autres.

### II.2.3 Gestion des forces masticatoires

Les implants ont été posés en secteur prémolaire, au niveau duquel le chien est en inoclusion (l'espace mésio-distal disponible dans ce secteur a permis de placer 3 implants espacés de 10 mm de chaque côté de l'arcade). Les chiens ont reçu une alimentation molle pendant toute la durée de l'expérimentation afin de réduire l'impact des forces masticatoires pendant le processus de cicatrisation. Cette situation peut néanmoins être considérée comme étant une « mise en charge indirecte », du fait de l'impossibilité d'empêcher les animaux d'exercer des forces sur les vis de cicatrisation.

### **II.3 Choix des systèmes implantaires et design général de l'étude**

Les deux systèmes implantaires que nous avons choisis dans le cadre de cette étude présentent le même état de surface et sont usinés dans le même matériau. Le diamètre, la longueur des implants, la hauteur transgingivale et supra-gingivale, la largeur du retrait implant-pilier sont similaires. Enfin, l'état de surface rugueux recouvre l'épaule des implants des deux systèmes.

La mise en parallèle des deux systèmes précédemment présentés avec d'autres implants du marché dont les qualités dans le maintien du niveau osseux ont été décrites dans des études pré-cliniques (notamment, l'implant Ankylos® de Dentsply en comparaison avec l'In-Kone® et l'implant Standard® de Straumann avec le TwinKon®) a constitué un important point de discussion. Cependant, l'influence certaine des états de surface dans les mécanismes de cicatrisation osseuse (Davies *et al.* 2003, Leguehennec *et al.* 2007) pouvant constituer un biais très important, cette possibilité a été écartée.

Initialement, l'objet de cette étude était de comparer deux systèmes implantaires présentant un décalage horizontal implant-pilier similaire, l'un avec une jonction implant-pilier infra-crestale à connectique étanche, l'autre sans jonction. Néanmoins du fait d'un biais important généré lors de la pose des implants, la comparaison des données a finalement été impossible (cf paragraphe III).

### **II.4 Délais de cicatrisation chez le chien**

L'ostéointégration est achevée 12 semaines après l'implantation sur les implants à surface rugueuse (Froum *et al.* 2003, Abrahamsson *et al.* 2004, De Maetzu *et al.* 2008), tandis que la cicatrisation et la maturation de la muqueuse péri-implantaire nécessite 6 à 8 semaines (Berglundh *et al.* 2007); et les phénomènes de remodelage osseux péri-implantaires sont visibles radiographiquement 1 mois après la mise en fonction des implants (Hermann *et al.* 1997, 2000-b).

Un premier délai de 3 semaines a été retenu dans le but d'observer les tissus osseux et muqueux en cours de cicatrisation, tandis que le second délai de 12 semaines correspond à une phase de cicatrisation achevée.

## II.5 Analyse histologique

### II.5.1 Remodelage osseux et valeur de l'analyse histomorphométrique

Il est important de préciser que *stricto sensu*, les mesures effectuées sur les coupes histologiques correspondent uniquement à la position du col de l'implant par rapport à la crête osseuse, à la position de l'os marginal par rapport à l'implant, et à la position de l'os marginal par rapport à l'os crestal, à un instant  $t$  ; et ne permettent pas de mesurer précisément le phénomène de remodelage tissulaire péri-implantaire.

L'analyse réelle du remodelage osseux en rapport avec le col implantaire, nécessite de connaître précisément le niveau initial de l'os et de suivre ce niveau au cours de la cicatrisation. Ceci est possible en réalisant des radiographies selon la technique des plans parallèles avec standardisation du positionnement de l'angulateur, ou à défaut calcul du coefficient de déformation.

Or dans les études histologiques deux données sont imprécises : l'enfouissement de l'implant par rapport à la crête osseuse qui est standardisé mais sous contrôle visuel, mais également la perte osseuse crestale liée à l'élévation du lambeau.

La distance entre le col de l'implant et la crête osseuse à l'issue des périodes de cicatrisation ne correspond donc pas à l'enfouissement de l'implant au moment de la chirurgie. Néanmoins, la chirurgie étant atraumatique et le remodelage crestal lié à l'élévation du lambeau de faible étendue, cette distance est utilisée dans la littérature comme valeur contrôle donnant une indication de la profondeur de l'enfouissement des implants lors de la chirurgie, et permettant de vérifier que l'enfouissement est globalement similaire pour tous les implants d'une même série.

De même la distance entre le sommet de la crête osseuse et le contact os-implant le plus coronaire donne une valeur approximative du remodelage osseux crestal.

Les premières études histologiques souhaitant évaluer et mesurer le phénomène de remodelage osseux mettaient en parallèles les données histologiques et radiographiques (Hermann *et al.* 1997, Hermann *et al.* 2000-b). Néanmoins, l'immense majorité des études pré-cliniques en implantologie rapportent uniquement des données histologiques. Finalement, l'intérêt de ces études n'est plus de mettre en évidence et de mesurer avec précision l'importance du remodelage total (crestal) mais uniquement de connaître la position de l'os par rapport à l'implant à l'issue de la cicatrisation et donc la présence ou l'absence d'un soutien pour la muqueuse.

## II.5.2 Protocole de traitement en histologie

Les échantillons issus de cette étude contenaient des tissus mous (muqueuse), des tissus durs (os), et l'implant en titane. Cette différence de dureté nécessitait d'utiliser un protocole particulier.

Selon les données de la littérature, les deux techniques les plus utilisées sont les suivantes :

- Le Cutting-grinding (Donath et Breuner 1982)

Cette méthode de traitement des échantillons adaptée aux biopsies contenant du titane permet d'obtenir des coupes d'une épaisseur de 40 à 100  $\mu\text{m}$  contenant l'implant.

- La « Fracture technique » (Thomsen et Ericsson 1985)

Cette technique consiste à déminéraliser l'os avant inclusion afin de pouvoir séparer l'implant en titane de la biopsie. Ainsi, des coupes fines classiques de 10  $\mu\text{m}$  peuvent être réalisées permettant une analyse histologique précise de l'organisation tissulaire.

L'association des deux techniques, comme c'est le cas dans certaines études (Berglundh *et al.* 2007), consiste à traiter une partie des échantillons selon la méthode de « cutting-grinding » et l'autre par la « fracture technique » afin d'observer à la fois l'organisation tissulaire générale par rapport à l'implant et la structure intime de la muqueuse. Cette option a pour inconvénient majeur de diviser par deux le nombre d'échantillons disponibles pour l'évaluation de chaque paramètre et constitue une limite à l'obtention de résultats significatifs.

Lors de la préparation de cette étude, nous avons réalisé une étude faisabilité sur pièce anatomique afin d'optimiser le protocole de traitement des échantillons.

Le protocole que nous avons développé consiste à sectionner les biopsies dans le plan mésio-distal en suivant le grand axe de l'implant selon la méthode de « cutting » décrite par Donath et Breuner (1982). Puis, le semi-bloc correspondant au côté lingual est usé selon la méthode de « grinding » afin d'obtenir une coupe « épaisse » contenant l'implant. Le semi-bloc vestibulaire est quant à lui à nouveau sectionné, et la méthode de cryo-fracture est utilisée afin d'obtenir deux quarts de la biopsie séparés de l'implant. Ainsi, la réalisation de coupes fines sans déminéraliser l'os a été possible.

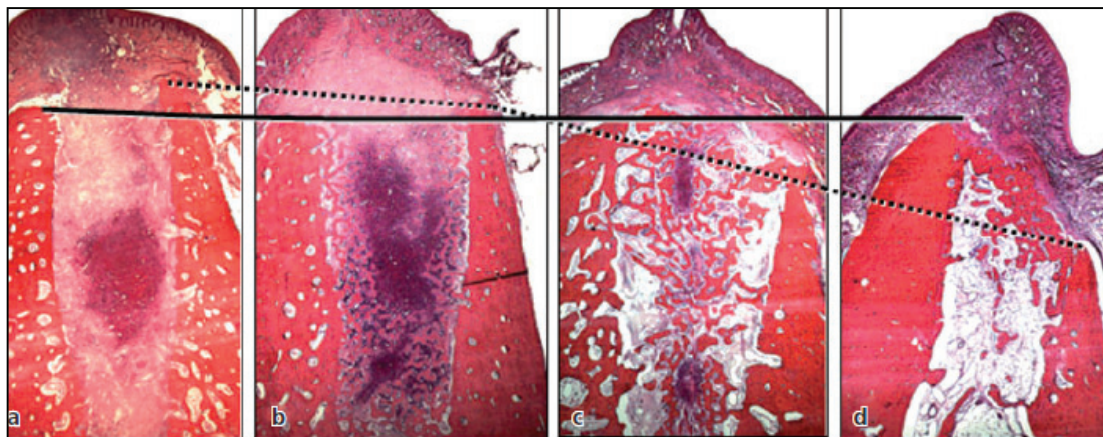
## II.5.3 Choix du plan de coupe des échantillons

Nous avons sectionné les biopsies dans le plan mésio-distal pour deux raisons.

D'une part, le remodelage osseux intervenant suite aux extractions dentaires chez le chien entraîne un remodelage osseux plus important en vestibulaire qu'en lingual (Araújo *et al.* 2005, 2006) (fig. 38). Ainsi lors du positionnement des implants une différence d'enfouissement entre les faces vestibulaires

et linguales est inévitable, tandis qu'en mésial et en distal le col de l'implant est positionné à un niveau constant par rapport à l'os, permettant ainsi de constituer une seule série de mesures. Le volume osseux vertical disponible était insuffisant pour permettre la réalisation d'une plastie de la crête avant la pose des implants.

D'autre part, la faible épaisseur de la crête ne permettait pas de garantir une épaisseur résiduelle d'os d'au moins 1 mm en vestibulaire et en lingual des implants du plus petit diamètre existant à cette époque dans cette gamme (3,5 mm). Ainsi la survenue d'un remodelage osseux marginal risquait d'entraîner l'effondrement du sommet de la crête osseuse, constituant un point de référence pour les mesures histomorphométriques de cette étude.



**Fig. 38** Coupes histologiques vestibulo-linguales décrivant le profil de la crête osseuse édentée au cours de la cicatrisation post-extractionnelle. De gauche à droite : à 1, 2, 4 et 8 semaines après extraction. En lingual (à gauche sur chaque coupe) la crête est préservée tandis qu'en vestibulaire (à droite) une résorption supérieure à 2 mm est observée (Araújo *et al.* 2008).

## II.6 Analyse statistique

### II.6.1 Calcul de puissance : détermination du nombre d'animaux nécessaires

L'objectif principal de l'étude était de comparer l'effet des deux types d'implants sur les mesures pour chacun des deux délais à partir d'échantillons appariés puisque chaque chien portait les deux types d'implant. Par précaution, nous avons basé le calcul du nombre de sujets nécessaires sur une comparaison de moyennes, échantillons indépendants correspondant à la comparaison des mesures entre deux délais par implant parce que cette situation requiert un plus grand nombre de sujets nécessaires que la situation de l'objectif principal.

Pour cela nous avons fait l'hypothèse comme dans beaucoup d'études à l'époque que les chiens étant de race pure, donc très similaires sur le plan génétique, les différences individuelles entre chiens étaient négligeables. Ceci revenait à considérer que 6 mesures avec le même implant et au même

délai sur un même chien correspondaient à 1 mesure sur 6 chiens différents. Par ailleurs, la littérature n'apportait pas d'information précise sur la distribution des mesures à effectuer et sur leur variabilité. Ainsi, nous avons donc fait un calcul de taille d'échantillons nécessaire pour avoir une puissance de 80% ou 90%, en considérant un risque alpha de 5%, et pour être capable de mettre en évidence une différence  $d$  entre les deux moyennes (correspondant à chacun des deux délais) exprimés en unité d'écart-type avec un test bilatéral.

$$d = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sigma}$$

Avec  $\sigma$  l'écart-type des mesures supposé commun dans les 2 populations comparées,  $\mu_1$  et  $\mu_2$  les moyennes des mesures dans les 2 populations comparées.

Compte-tenu du protocole choisi par chien, nous avons 6 mesures par chien par type d'implant. La table 3 nous donne le nombre de chiens nécessaire pour les différentes spécifications.

Taille de l'effet	80%	90%
0.5	10.63	14.17
0.6	7.43	9.89
0.7	5.50	7.31
0.8	4.25	5.64
0.9	3.40	4.49
<b>1</b>	<b>2.79</b>	<b>3.67</b>
1.1	2.33	3.06
1.2	1.99	2.60
1.3	1.72	2.25
1.4	1.51	1.96
1.5	1.34	1.73
1.6	1.21	1.55
1.7	1.09	1.39
1.8	1.00	1.26
1.9	0.92	1.16
2	0.85	1.06

**Tab. 3** Détermination du nombre de modèles en fonction de la taille de l'effet et de la puissance.

Nous avons choisi une différence ou « effet taille » de 1 écart-type. Si les distributions sont normales, cet effet taille de 1 signifie qu'avec le délai long par exemple, 50% des chiens auraient une valeur supérieure à seulement 16% des chiens avec délai court.

Avec cette taille d'effet, il était nécessaire d'avoir au moins 4 chiens par groupe, ce qui nous garantissait une puissance de 90%. Ce nombre était en accord avec les règles d'éthique qui déconseillent l'utilisation d'un grand nombre d'animaux et correspondait à la stratégie actuelle d'application de la règle des 3R (Richmond 2000).

#### II.6.2 Randomisation

Tous les implants du même système ont été posés du même côté de l'arcade pour un même chien, à droite ou à gauche. Pour chaque chien, l'implant à positionner sur le côté « droit » ou gauche » a été défini par randomisation par le statisticien de l'étude.

#### II.6.3 Choix de la méthode d'analyse statistique

En suivant le même raisonnement que pour les études cliniques, l'unité statistique de référence devrait être le chien dans les études histologiques. Les différentes mesures prises au sein de cette unité sont alors considérées comme des mesures répétées si l'on suppose qu'il n'y a pas de différence de mesure selon la position de l'implant sur l'arcade et la face utilisée (mésiale/distale). L'intérêt de la pose de plusieurs implants du même groupe chez un même chien est également d'éviter la perte totale de donnée par chien dans le cas d'un échec implantaire.

Afin d'éviter les biais dans l'estimation et l'intervalle de confiance des différences des mesures entre les deux délais de cicatrisation, nous avons tenu compte dans l'analyse statistique de l'effet localisation emboîté dans l'effet chien sur les mesures. Ces effets n'étant pas intéressants pour notre étude, nous les avons traités en effets aléatoires. Le modèle statistique utilisé pour les deux études est donc un modèle à effets mixtes :

- 1) Effet fixe du délai de cicatrisation sur la mesure pour lequel le modèle estime la moyenne
  - 2) Effets aléatoires « localisation » emboîté dans « chien » pour lesquels la variance est estimée.
- L'intérêt d'un modèle mixte est d'éviter les biais dans l'estimation et l'intervalle de confiance des effets fixes et donc dans le calcul du degré de significativité ( $p$ ).

### **III / LIMITES ET PERSPECTIVES**

---

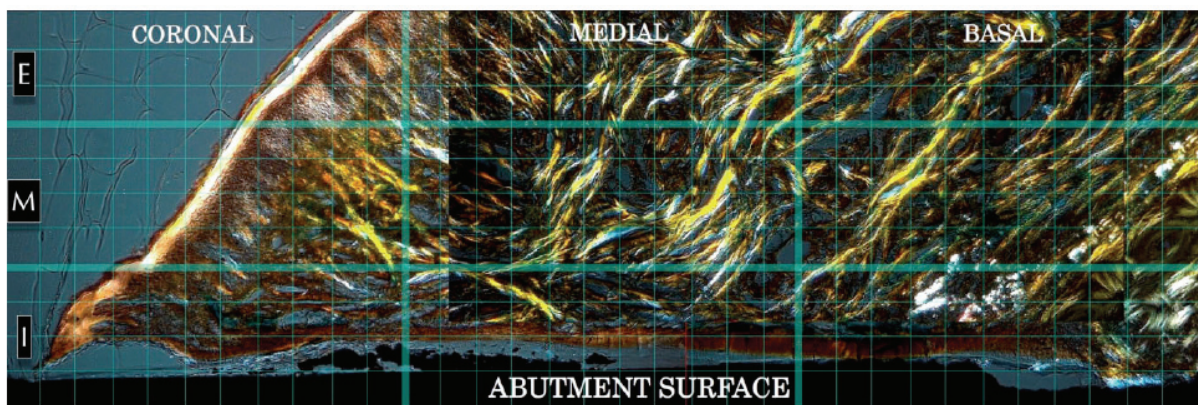
La principale limite de cette étude réside dans l'absence de comparaison entre les deux groupes. L'objectif initial était de comparer deux systèmes implantaires présentant un décalage horizontal implant-pilier similaire, l'un avec une jonction implant-pilier infra-crestale à connectique étanche, l'autre sans jonction.

La différence d'enfouissement de presque 1 mm entre les deux groupes constitue un biais majeur et rend impossible la mise en parallèle des résultats du fait de l'influence de l'enfouissement des



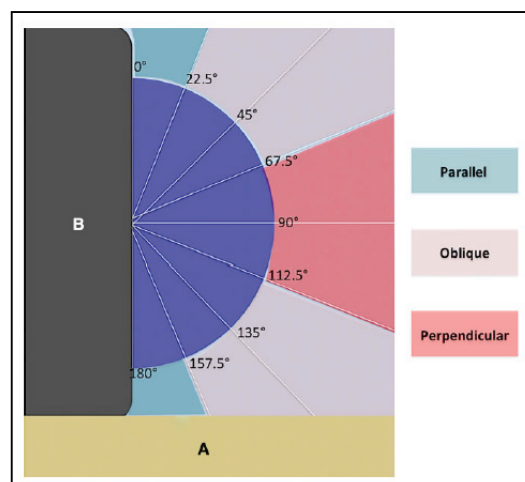
implants sur la valeur de l'espace biologique et le remodelage osseux marginal (Hermann *et al.* 2000-b ; 2001-a, Weng *et al.* 2010).

D'autres travaux sont actuellement en cours pour approfondir cette étude. Selon nos observations, dans le tissu conjonctif les fibres de collagène ancrées latéralement dans la crête osseuse se dirigent de manière perpendiculaire au pilier dans les deux groupes. Une étude histomorphométrique semi-quantitative est en projet afin d'évaluer avec précision l'orientation des fibres de collagène dans le tissu conjonctif en relation avec le pilier ou le col transgingival et de comparer les deux groupes. L'objectif est d'analyser les coupes en lumière polarisée (microscopie optique) avec une grille de lecture (fig. 39) inspirée de celle proposée par Delgado-Ruiz *et al.* (2015).



**Fig. 39** Grille de lecture superposée aux coupes histologiques. Trois zones sont définies dans le plan horizontal : interne (I), médiale (M), et externe (E) et trois zones dans le plan vertical : coronaire, médiale et basale (Delgado-Ruiz *et al.* 2015).

Dans chaque carré défini par la grille de lecture, l'orientation principale des fibres de collagène est définie selon l'angle formé avec la surface implantaire (fig. 40).



**Fig. 40** Schéma des différentes orientations des fibres de collagène par rapport au pilier implantaire ; A : os, B : pilier implantaire (Delgado-Ruiz *et al.* 2015).

## CONCLUSION

Les résultats de cette étude sont partagés concernant les implants « deux-parts » présentant une connectique cône morse (Berglundh *et al.* 2005, Cochran *et al.* 2009, Weng *et al.* 2010, Weng *et al.* 2011, Heitz-Mayfield *et al.* 2013, Castro *et al.* 2014). La perte osseuse objectivée pourrait être liée au placement juxta-crestal des implants dans un os très corticalisé. Cette configuration d'implant semble néanmoins favoriser la mise en place d'un espace biologique court et réduire l'importance de la perte osseuse marginale péri-implantaire en comparaison des données de la littérature concernant des connectiques classiques moins étanches.

Les implants « une-part » à col transmuqueux étroit sont d'après les résultats de cette étude, associés à des valeurs réduites d'espace biologique et supprimeraient la perte osseuse marginale en autorisant une repousse osseuse sur l'épaule de l'implant. Ces résultats sont excellents et vont dans le sens de ce qui est actuellement décrit dans la littérature (Kim *et al.* 2010, Huh *et al.* 2014).

Les implications cliniques de tels résultats pourraient être les suivantes :

- Soutien des tissus mous : la préservation de l'os marginal favorise le maintien de la muqueuse à un niveau le plus coronaire possible en vestibulaire et la présence de papilles en interproximal.
- Qualité de l'intégration tissulaire : à l'issue de la cicatrisation la muqueuse est exempte d'inflammation ce qui constitue un bon atout pour le succès à long terme du traitement.
- Assouplissement des règles de positionnement des implants :
  - En hauteur : une réduction de la hauteur nécessaire à la mise en place de l'espace biologique aurait pour conséquence une absence de remodelage osseux en vue de rétablir cet espace si la muqueuse est fine ou l'implant moins enfoui.
  - Dans les plans vestibulo-palatin et mésio-distal : une réduction de la perte de support osseux et donc muqueux liée à la cratérisation suppose de pouvoir poser les implants plus proches du rebord vestibulaire et plus proches les uns des autres.

Les résultats d'une récente étude en micro-tomographie réalisée chez le mini-pig par Elian *et al.* (2014) vont dans ce sens. Ces auteurs ont étudié l'effet d'une réduction de la distance inter-implant sur le niveau osseux interproximal en utilisant des implants platform-switchés avec cône morse. Ils concluent que ces implants peuvent potentiellement être positionnés à 2 mm les uns des autres au lieu des 3 mm habituels.

Beaucoup de connaissances en implantologie orale sont issues des résultats des études histologiques chez l'animal. Bien qu'apportant beaucoup à la compréhension des mécanismes biologiques les résultats de ces études n'ont pas une valeur scientifique suffisante pour établir des recommandations. Il n'existe pas à ce jour d'étude clinique constituant un niveau de preuve suffisant

pour conclure à la supériorité d'une configuration implantaire par rapport à une autre pour le maintien des tissus péri-implantaires dans le temps.

Dans un récent rapport de consensus (Jepsen *et al.* 2015), le design implantaire n'a pas été identifié comme facteur de risque pour le développement des pathologies péri-implantaires : il n'existe pas à ce jour de données suffisantes permettant de mettre en évidence une influence du type de connectique sur la prévalence des mucosites et des péri-implantites.

Quelques premières conclusions et/ou recommandations apparaissent dans la littérature concernant l'utilisation du platform-switching. Deux méta-analyses d'études cliniques réalisées par Chrcanovic *et al.* (2015) et Strietzel *et al.* (2015) rapportent une perte d'os marginal moins importante autour d'implants « platform-switchés » en comparaison avec les implants « platform-matchés ». Néanmoins, les auteurs conseillent d'interpréter ce résultat avec prudence et jugent le niveau de preuve insuffisant pour pouvoir conclure formellement.

Selon une étude clinique réalisée par Linkevicius *et al.* (2014), le platform-switching ne permet pas de maintenir l'os marginal si le biotype parodontal est fin. Les auteurs, dans la discussion de cet article, rapportent que les résultats des études cliniques analysant l'intérêt du platform-switching dans le maintien de l'os péri-implantaire sont inconstants. Ils émettent l'hypothèse que le biotype parodontal, qui n'est pas pris en compte dans la construction des protocoles cliniques et l'analyse des données, pourrait jouer un rôle crucial. L'influence du biotype parodontal sur la cratérisation péri-implantaire n'est pas étudiée dans la littérature pré-clinique. L'explication réside dans le fait qu'il est impossible de trouver des modèles présentant des biotypes parodontaux d'épaisseurs variables : les modèles, issus de lignées, présentent très peu de variabilité inter-individuelle. Selon Linkevicius *et al.* (2014), l'analyse des effets du platform-switching sur le maintien de l'os marginal chez le Beagle montre parfois des résultats décevants car le biotype de ce modèle est fin. L'impact du biotype parodontal sur le maintien de l'os marginal est à confirmer par d'autres études mais la prise en compte de son rôle éventuel dans la conception des protocoles et l'analyse des données des études histologiques constitue d'ores et déjà une perspective intéressante.

D'autres études sont à mener pour identifier tous les paramètres jouant un rôle dans les remodelages tissulaires péri-implantaires et leurs interactions, améliorer les systèmes implantaires et les protocoles chirurgicaux, établir des recommandations de traitement afin de conserver de manière complète et prévisible les tissus péri-implantaires à long terme.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(3):212-9.
- 2 - Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. The mucosal barrier following abutment dis/reconnection: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1997;24(8):568-72.
- 3 - Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998;25(9):721-7.
- 4 - Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Wennerberg A, Lindhe J. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: an experimental study in the dog. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16(3):323-32.
- 5 - Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Linder E, Wennerberg A, Lindhe J. The mucosal attachment to titanium implants with different surface characteristics: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2002;29(5):448-55.
- 6 - Abrahamsson I, Berglundh T, Sekino S, Lindhe J. Tissue reactions to abutment shift: an experimental study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5(2):82-8.
- 7 - Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(4):381-92.
- 8 - Abrahamsson I, Berglundh T. Tissue characteristics at microthreaded implants: an experimental study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2006;8 (3):107-13.
- 9 - Abrahamsson I, Cardaropoli G. Peri-implant hard and soft tissue integration to dental implants made of titanium and gold. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(3):269-74.
- 10 - Abrahamsson I, Welander M, Linder E, Berglundh T. Healing at implants placed in an alveolar ridge with a sloped configuration: an experimental study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(1):62-9.
- 11 - Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1986;1(1):11-25.
- 12 - Al-Nsour MM, Chan HL, Wang HL. Effect of the platform-switching technique on preservation of peri-implant marginal bone: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012;27(1):138-45.
- 13 - Annibali S, Bignozzi I, Cristalli MP, Graziani F, La Monaca G, Polimeni A. Peri-implant marginal bone level: a systematic review and meta-analysis of studies comparing platform switching versus conventionally restored implants. *J Clin Periodontol.* 2012;39(11):1097-113.
- 14 - Araújo MG, Sukekava F, Wennström JL, Lindhe J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005;32(6):645-52.
- 15 - Araújo MG, Sukekava F, Wennström JL, Lindhe J. Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(6):615-24.
- 16 - Araújo MG, Lindhe J. The edentulous alveolar ridge. In : Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 5th edition. Oxford : Blackwell Munksgaard ; 2008, 50-68.
- 17 - Astrand P, Engquist B, Dahlgren S, Engquist E, Feldmann H, Gröndahl K. Astra Tech and Brånemark System implants: a prospective 5-year comparative study. Results after one year. *Clin Implant Dent Relat Res.* 1999;1(1):17-26.
- 18 - Astrand P, Engquist B, Dahlgren S, Gröndahl K, Engquist E, Feldmann H. Astra Tech and Brånemark system implants: a 5-year prospective study of marginal bone reactions. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(4):413-20.
- 19 - Atieh MA, Ibrahim HM, Atieh AH. Platform switching for marginal bone preservation around dental implants: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2010;81(10):1350-66.
- 20 - Baffone GM, Botticelli D, Pantani F, Cardoso LC, Schweikert MT, Lang NP. Influence of various implant platform configurations on peri-implant tissue dimensions: an experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(4):438-44.

- 21 - Baffone GM, Botticelli D, Canullo L, Scala A, Beolchini M, Lang NP. Effect of mismatching abutments on implants with wider platforms: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(3):334-9.
- 22 - Barros RR, Noaves AB Jr, Muglia VA, Iezzi G, Piatelli A. Influence of interimplant distances and placement depth on peri-implant bone remodeling of adjacent and immediately loaded morse cone connection implants: a histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(4):371-8.
- 23 - Becker J, Ferrari D, Herten M, Kirsch A, Schaer A, Schwarz F. Influence of platform switching on crestal bone changes at non-submerged titanium implants: a histomorphometrical study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2007;34(12):1089-96.
- 24 - Becker J, Ferrari D, Mihatovic I, Sahm N, Schaer A, Schwarz F. Stability of crestal bone level at platform-switched non-submerged titanium implants: a histomorphometrical study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2009;36(6):532-9.
- 25 - Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res.* 1991;2(2):81-90.
- 26 - Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol.* 1994;21(3):189-93.
- 27 - Berglundh T, Lindhe J. Dimensions of the periimplant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol.* 1996;23(10):971-3.
- 28 - Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clin Oral Implants Res* 2003;14(3):251-62.
- 29 - Berglundh T, Abrahamsson I, Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2005;32(9):925-32.
- 30 - Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(1):1-8.
- 31 - Berglundh T, Stavropoulos A; Working Group 1 of the VIII European Workshop on Periodontology. Preclinical in vivo research in implant dentistry. Consensus of the eighth European workshop on periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012;39 Suppl 12: S1-5.
- 32 - Bert M. Etiologie des échecs. Dans Bert M. Complications et échecs en implantologie. Paris : Editions CdP; 1994, p.159-173.
- 33 - Blanco J, Nuñez V, Aracil L, Muñoz F, Ramos I. Ridge alterations following immediate implant placement in the dog: flap versus flapless surgery. *J Clin Periodontol.* 2008;35(7):640-8.
- 34 - Boioli LT, Penaud J, Miller N. A meta-analytic, quantitative assessment of osseointegration establishment and evolution of submerged and non-submerged endosseous titanium oral implants. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(6):579-88.
- 35 - Boivin G, Meunier PJ. Histomorphometric methods applied to bone. In: Grupe G, Garland AN. *Histology of Ancient Human Bone: Methods and Diagnosis.* Berlin : Springer Verlag; 1993, 137-56.
- 36 - Bozkaya D, Müftü S. Mechanics of the tapered interference fit in dental implants. *J Biomech* 2003;36(11):1649-58.
- 37 - Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969;3(2):81-100.
- 38 - Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén Oohman A. Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw: experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1977;16:1-132.
- 39 - Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, Buser D, Mellonig JT, Cochran DL. Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *J Dent Res.* 2003;82(3):232-7.
- 40 - Broggini M, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res.* 2006;85(5):473-8.
- 41 - Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J Periodontol.* 1992;63(3):225-35.

- 42 - Castro DS, Araújo MA, Benfatti CA, Araújo Cdos R, Piattelli A, Perrotti V, Iezzi G. Comparative histological and histomorphometrical evaluation of marginal bone resorption around external hexagon and morse cone implants: an experimental study in dogs. *Implant Dent.* 2014;23(3):270-6.
- 43 - Choi KS, Lozada JL, Kan JY, Lee SH, Kim CS, Kwon TG. Study of an experimental microthreaded scalloped implant design: proximal bone healing at different interimplant distances in a canine model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25(4):681-9.
- 44 - Chou HY, Müftü S, Bozkaya D. Combined effects of implant insertion depth and alveolar bone quality on periimplant bone strain induced by a wide-diameter, short implant and a narrow-diameter, long implant. *J Prosthet Dent.* 2010;104(5):293-300.
- 45 - Chrcanovic BR, Albrektsson T, Wennerberg A. Platform switch and dental implants: a meta-analysis. *J Dent.* 2015;43(6):629-46.
- 46 - Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implant-to-gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 1997;68(2):186-98.
- 47 - Cochran DL, Bosshardt DD, Grize L, Higginbottom FL, Jones AA, Jung RE, Wieland M, Dard M. Bone response to loaded implants with non-matching implant-abutment diameters in the canine mandible. *J Periodontol* 2009;80(4):609-17.
- 48 - Cochran DL, Mau LP, Higginbottom FL, Wilson TG, Bosshardt DD, Schoolfield J, Jones AA. Soft and hard tissue histologic dimensions around dental implants in the canine restored with smaller-diameter abutments: a paradigm shift in peri-implant biology. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013;28(2):494-502.
- 49 - Cohen J. The concepts of power analysis. In: Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences.* 2nd edition. Hillsdale (N.J.): L. Erlbaum Associates ; 1988, p.1-17.
- 50 - Comut AA, Weber HP, Shortkroff S, Cui FZ, Spector M. Connective tissue orientation around dental implants in a canine model. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(5):433-40.
- 51 - Davarpanah M, Szmukler-Moncler S, Khoury M. Le concept de Platform-switching et ses implications. Dans : Davarpanah M, Szmukler-Moncler S. *Manuel d'implantologie clinique : concepts, protocoles et innovations récentes.* 2e édition. Paris : Editions CdP ; 2008, p.497-508.
- 52 - Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dental Ed.* 2003;67(8):932-49.
- 53 - Degidi M, Piattelli A, Scarano A, et al. Peri-implant collagen fibers around human cone morse connection implants under polarized light: a report of three cases. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012;32(3):323-8.
- 54 - De Angelis N, Nevins ML, Camelo MC, Ono Y, Campailla M, Benedicenti S. Platform switching versus conventional technique: a randomized controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2014;34 Suppl 3:S75-9.
- 55 - Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Abboud M, Ramirez-Fernandez MP, Maté-Sánchez de Val JE, Negri B, Gomez-Moreno G, Markovic A. Connective tissue characteristics around healing abutments of different geometries: new methodological technique under circularly polarized light. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015;17(4):667-80.
- 56 - De Maezta MA, Bracerás I, Alava JI, Gay-Escoda C. Improvement of osseointegration of titanium dental implant surfaces modified with CO ions: a comparative histomorphometric study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(5):441-7.
- 57 - De Sanctis M, Baldini N, Vignoletti F. Espace biologique péri-implantaire. Preuves histologiques : revue d'études animales. *J Parodontol Implantol Orale.* 2010;29(4):245-59.
- 58 - Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(5):732-7.
- 59 - Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol.* 1982;11(4):318-26.
- 60 - Elian N, Bloom M, Dard M, Cho SC, Trushkowsky RD, Tarnow D. Radiological and micro-computed tomography analysis of the bone at dental implants inserted 2, 3 and 4 mm apart in a minipig model with platform switching incorporated. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(2):e22-9.
- 61 - Ericsson I, Nilner K, Klinge B, Glantz PO. Radiographical and histological characteristics of submerged and nonsubmerged titanium implants. An experimental study in the Labrador dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(1):20-6.



- 62 - Farronato D, Santoro G, Canullo L, Botticelli D, Maiorana C, Lang NP. Establishment of the epithelial attachment and connective tissue adaptation to implants installed under the concept of "platform switching": a histologic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(1):90-4.
- 63 - Ferreira Borges P, Dragoo M. Reactions of periodontal tissues to biologic implant abutments. Clinical and histological evaluation (a pilot study). *Journal GABD Online.* 2010;1(1):18-23.
- 64 - Finelle G, Papadimitriou DEV, Souza AB, Katebi N, Gallucci GO, Araújo MG. Peri-implant soft tissue and marginal bone adaptation on implant with non-matching healing abutments: micro-CT analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(4):e42-6.
- 65 - French D, Larjava H, Ofec R. Retrospective cohort study of 4591 Straumann implants in private practice setting, with up to 10-year follow-up. Part 1: multivariate survival analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2015 Nov;26(11):1345-54. Epub 2014 Aug 19.
- 66 - Froum S, Tarnow D, Jalbout Z, Brun JP, Fromental R. Histological evaluation of the Serf EVL evolution implant: a pilot study in a dog model. *Implant Dent.* 2003;12(1):69-74.
- 67 - Gargiulo AW, Wentz FM, Orban, B. Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. *J Periodontol.* 1961;32(3):261-7.
- 68 - Glauser R, Schüpbach P, Gottlow J, Hämmerle CH. Periimplant soft tissue barrier at experimental one-piece mini-implants with different surface topography in humans: a light-microscopic overview and histometric analysis. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2005;7 Suppl 1:S44-51.
- 69 - Glauser R, Zembic A, Hammerle CH. A systematic review of marginal soft tissue at implants subjected to immediate loading or immediate restoration. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17 Suppl 2:S82-92.
- 70 - Gould TRL, Westbury L, Brunette DM. Ultrastructural study of the attachment of human gingiva to titanium in vivo. *J Prosthet Dent.* 1984;52(3):418-20.
- 71 - Hansson S. The implant neck : smooth or provided with retention elements. A biomechanical approach. *Clin Oral Implants Res.* 1999;10(5):394-405.
- 72 - Hansson S. Implant-abutment interface: biomechanical study of flat top versus conical. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2000;2(1):33-41.
- 73 - Hansson S. A conical implant-abutment interface at the level of the marginal bone improves the distribution of stresses in the supporting bone. An axisymmetric finite element analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(3):286-93.
- 74 - Hansson S, Halldin A. Re: effect of microthreads and platform switching on crestal bone stress levels: a finite element analysis. *J Periodontol.* 2009;80(7):1033-5; authors response 1035-6.
- 75 - Hashimoto M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. Ultrastructure of the peri-implant junctional epithelium on single-crystal sapphire endosseous dental implant loaded with functional stress. *J Oral Rehabil.* 1989;16(3):261-70.
- 76 - Hermann JS, Cochran DL, Nummikovski PV, Buser D. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 1997;68(11):1117-30.
- 77 - Hermann JS, Buser D, Schenck RK, Higginbottom FL, Cochran DL. Biologic width around titanium implants. A physiologically formed and stable dimension over time. *Clin Oral Implants Res.* 2000-a;11(1):1-11.
- 78 - Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 2000-b;71(9):1412-24.
- 79 - Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Schoofield JD, Cochran DL. Biologic width around one- and two-piece titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 2001-a;12(6):559-71.
- 80 - Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 2001-b;72(10):1372-83.
- 81 - Hermann JS, Jones AA, Bakaeen LG, Buser D, Schoolfield JD, Cochran DL. Influence of a machined collar on crestal bone changes around titanium implants: a histometric study in the canine mandible. *J Periodontol.* 2011;82(9):1329-38.
- 82 - Heitz-Mayfield LJ, Darby I, Heitz F, Chen S. Preservation of crestal bone by implant design. A comparative study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(3):243-9.



- 83 - Huang HL, Chang CH, Hsu JT, Fallgatter AM, Ko CC. Comparison of implant body designs and threaded designs of dental implants: a 3-dimensional finite element analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22(4):551-62.
- 84 - Huh JB, Rhee GB, Kim YS, Jeong CM, Lee JY, Shin SW. Influence of implant transmucosal design on early peri-implant tissue responses in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(8):962-8.
- 85 - Jakubowicz-Kohen B, Smukler-Moncler S, Davarpanah M. Les différentes morphologies implantaires. Dans : Davarpanah M, Smukler-Moncler S. *Manuel d'implantologie clinique : concepts, protocoles et innovations récentes*. 2e édition. Paris : Editions CdP ; 2008, p.81-91.
- 86 - Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(4):527-40.
- 87 - Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, Figuero E, Giovannoli JL, Goldstein M, Lambert F, Ortiz-Vigon A, Polyzois I, Salvi GE, Schwarz F, Serino G, Tomasi C, Zitzmann NU. Primary prevention of periimplantitis: managing peri-implant mucositis. *J Clin Periodontol*. 2015;42 Suppl 16:S152-7.
- 88 - Jones AA, Cochran DL. Consequences of implant design. *Dent Clin North Am*. 2006;50(3):339-60.
- 89 - Jung YC, Han CH, Lee KW. A 1-year radiographic evaluation of marginal bone around dental implants. *Int J Maxillofac Implants*. 1996;11(6):811-8.
- 90 - Jung RE, Jones AA, Higginbottom FL, Wilson TG, Scofield J, Buser D, Hammerle CH, Cochran DL. The influence of non-matching implant and abutment diameters on radiographic crestal bone levels in dogs. *J Periodontol*. 2008;79(2):260-70.
- 91 - King GN, Hermann JS, Schoofield JD, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone levels in non-submerged dental implants: a radiographic study in the canine mandible. *J Periodontol*. 2002;73(10):1111-7.
- 92 - Kilkenney C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MF, Cuthill IC, Fry D, Hutton J, Altman DG. Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals. *PLoS One*. 2009;4(11):e7824.
- 93 - Kilkenney C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8(6):e1000412.
- 94 - Kim JI, Choi BH, Li J, Xuan F, Jeong SM. Blood vessels of the peri-implant mucosa: a comparison between flap and flapless procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(4):508-12.
- 95 - Kim S, Oh KC, Han DH, Heo SJ, Ryu IC, Kwon JH, Han CH. Influence of transmucosal designs of three one-piece implant systems on early tissue responses: a histometric study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(2):309-14.
- 96 - Kohal RJ, Weng D, Bächle M, Strub JR. Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. *J Periodontol*. 2004;75(9):1262-8.
- 97 - Koutouzis T, Neiva R, Nonhoff J, Lundgren T. Placement of Implants with platform-switched morse taper connections with the implant-abutment interface at different levels in relation to the alveolar crest: a short term (1-year) randomized prospective controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013;28(6):1553-63.
- 98 - Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006;26(1):9-17.
- 99 - Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater*. 2007;23(7):844-54.
- 100 - Lindhe J, Wennström JL, Berglundh T. The mucosa at teeth and implants. In : Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 5th edition. Oxford : Blackwell Munksgaard ; 2008, p.69-85.
- 101 - Linkevicius T, Puisys A, Steigmann M, Vindasiute E, Linkeviciene L. Influence of vertical soft tissue thickness on crestal bone changes around implants with platform switching: a comparative clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014;1-9. Epub 2014 Mar 28.
- 102 - Listgarten MA, Lai CH. Ultrastructure of the intact interface between an endosseous epoxy resin dental implant and the host tissues. *J Biol Buccale*. 1975;3(1):13-28.
- 103 - Listgarten MA, Buser D, Steinemann SG, Donath K, Lang NP, Weber HP. Light and transmission electron microscopy of the intact interfaces between non-submerged titanium-coated epoxy resin implants and bone or gingiva. *J Dent Res*. 1992;71(2):364-71.

- 104 - López-López PJ, Mareque-Bueno J, Boquete-Castro A, Aguilar-Salvatierra Raya A, Martínez-González JM, Calvo-Guirado JL. The effects of healing abutments of different size and anatomic shape placed immediately in extraction sockets on peri-implant hard and soft tissues. A pilot study in foxhound dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Oct 31;1-8. Epub 2014 Sep 16.
- 105 - Luongo R, Traini T, Guidone PC, Bianco G, Cocchetto R, Celletti R. Hard and soft tissue responses to the platform-switching technique. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28(6):551-7.
- 106 - McKinney RV Jr, Steflik DE, Koth DL. Evidence for a junctional epithelial attachment to ceramic dental implants. A transmission electron microscopic study. *J Periodontol*. 1985;56(10):579-91.
- 107 - Misch CE, Dietsh-Misch F, Hoar J, Beck G, Hazen R, Misch CM. A bone quality-based implant system: first year of prosthetic loading. *J Oral Implantol*. 1999;25(3):185-97.
- 108 - Moon IS, Berglundh T, Abrahamsson I, Linder E, Lindhe J. The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 1999;26(10):658-63.
- 109 - Nevins M, Nevins ML, Camelo M, Boyesen JL, Kim DM. Human histologic evidence of a connective tissue attachment to a dental implant. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28(2):111-21.
- 110 - Nevins M, Kim DM, Jun SH, Guze K, Schubach P, Nevins ML. Histologic evidence of a connective tissue attachment to laser microgrooved abutments: a canine study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2010;30(3):245-55.
- 111 - Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schubach P, Kim DM. Connective tissue attachment to laser-microgrooved abutments: a human histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012;32(4):385-92.
- 112 - Nevins M, Camelo M, Koo S, Lazzara RJ, Kim DM. Human histologic assessment of a platform-switched osseointegrated dental implant. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2014;34 Suppl 3:S71-3.
- 113 - Novaes AB Jr, Barros RR, Muglia VA, Borges GJ. Influence of interimplant distances and placement depth on papilla formation and crestal resorption: a clinical and radiographic study in dogs. *J Oral Implantol*. 2009;35(1):18-27.
- 114 - Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce RG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*. 2007;13:1-10.
- 115 - Pennel BM, King KO, Wilderman MN, Barron JM. Repair of the alveolar process following osseous surgery. *J Periodontol*. 1967;38(5):426-31.
- 116 - Pontes AE, Ribeiro FS, Iezzi G, Piattelli A, Cirelli JA, Marcantonio E Jr. Biologic width changes around loaded implants inserted in different levels in relation to crestal bone: histometric evaluation in canine mandible. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(5):483-90.
- 117 - Quaranta A, Piattelli A, Scarano A, Quaranta M, Pompa G, Iezzi G. Light-microscopic evaluation of the dimensions of peri-implant mucosa around immediately loaded and submerged titanium implants in monkeys. *J Periodontol*. 2008;79(9):1697-703.
- 118 - Renouard F, Rangert B. Facteurs de risque biomécaniques. Dans : Renouard F, Rangert B. *Prise de décision en pratique implantaire*. Paris: Quintessence international ; 2005, p.37-62.
- 119 - Richmond J. The 3Rs - Past, present and future. *Scand J Lab Anim Sci*. 2000;27(2):84-92.
- 120 - Rimondini L, Bruschi GB, Scipioni A, Carrassi A, Nicoli-Aldini N, Giavaresi G, Fini M, Mortellaro C, Giardino R. Tissue healing in implants immediately placed into postextraction sockets: a pilot study in a mini-pig model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100(3):e43-50.
- 121 - Rodriguez X, Vela X, Calvo-Guirado JL, Nart J, Stappert CF. Effect of platform switching on collagen fiber orientation and bone resorption around dental implants: a preliminary histologic animal study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(5):1116-22.
- 122 - Romanos GE, Javed F. Platform switching minimises crestal bone loss around dental implants: truth or myth? *J Oral Rehabil*. 2014;41(9):700-8.
- 123 - Rompen E, Domken O, Degidi M, Pontes AEF, Piattelli A. The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: a literature review. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17 Suppl 2: S55-67.

- 124 - Rompen E, Raepsaet N, Domken O, et al. Soft tissue stability at the facial aspect of gingivally converging abutments in the esthetic zone: a pilot clinical study. *J Prosthet Dent.* 2007;97(6 Suppl):S119-25. Erratum in: *J Prosthet Dent.* 2008;99(3):167.
- 125 - Rompen E. The impact of the type and configuration of abutments and their (repeated) removal on the attachment level and marginal bone. *Eur J Oral Implantol.* 2012 ;5 Suppl:S83-90.
- 126 - Rossi S, Tirri T, Paldan H, Kuntsi-Vaattovaara H, Tulamo R, Närhi T. Peri-implant tissue response to TiO<sub>2</sub> surface modified implants. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(4):348-55.
- 127 - Ruggeri A, Franchi M, Marini N, Trisi P, Piatelli A. Supracrestal circular collagen fiber network around osseointegrated nonsubmerged titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 1992;3(4):169-75.
- 128 - Schierano G, Ramieri G, Cortese M, Aimetti M, Preti G. Organization of the connective tissue barrier around long-term loaded implant abutments in man. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(5):460-4.
- 129 - Schneck E, Chapotat B. Influence de la connectique cône morse dans le maintien des tissus péri-implantaires. *Implant.* 2011;17:203-14.
- 130 - Schubach P, Glauser R. The defense architecture of the human periimplant mucosa: a histological study. *J Prosthet Dent.* 2007;97(6 Suppl):S15-25.
- 131 - Schroeder A. The Herskovits implant. Preliminary report on a new implantation method. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd.* 1974;84(7):742-7.
- 132 - Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg.* 1981;9(1):15-25.
- 133 - Schwarz F, Ferrari D, Herten M, Mihatovic I, Wieland M, Sager M, Becker J. Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *J Periodontol.* 2007;78(11):2171-84.
- 134 - Schwarz F, Mihatovic I, Becker J, Bormann KH, Kieve PL, Friedmann A. Histological evaluation of different abutments in the posterior maxilla and mandible: an experimental study in humans. *J Clin Periodontol.* 2013;40(8):807-15.
- 135 - Schwarz F, Hegewald A, Becker J. Impact of implant–abutment connection and positioning of the machined collar/microgap on crestal bone level changes: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(4):417-25.
- 136 - Siar CH, Toh CG, Romanos G, Swaminathan D, Ong AH, Yaacob H, Nentwig GH. Peri-implant soft tissue integration of immediately loaded implants in the posterior macaque mandible: a histomorphometric study. *J Periodontol.* 2003;74(5):571-8.
- 137 - Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *J Clin Periodontol.* 2014;41 Suppl 15:S6-22.
- 138 - Smith DE, Zarb GA. Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. *J Prosthet Dent.* 1989;62(5):567-72.
- 139 - Strietzel FP, Neumann K, Hertel M. Impact of platform switching on marginal peri-implant bone-level changes. A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(3):342-58.
- 140 - Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hammerle CH. Biofilm on dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(4):616-26.
- 141 - Szmukler-Moncler S, Piattelli A, Favero GA, Dubrille JH. Considerations preliminary to the application of early and immediate loading protocols in dental implantology. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11(1):12-25.
- 142 - Szmukler-Moncler S, Davarpanah M, Bernard JP, Jakubowicz-Kohen P, Koury M. Réponse des tissus durs et mous à l'implantation. Dans : Davarpanah M, Szmukler-Moncler S. Manuel d'implantologie clinique : concepts, protocoles et innovations récentes. 2e édition. Paris : Editions CdP ; 2008, p.25-57.
- 143 - Tarnow DP, Magner AW, Fletcher P. The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *J Periodontol.* 1992;63(12):995-6.
- 144 - Tetè S, Mastrangelo F, Bianchi A, Zizzari V, Scarano A. Collagen fiber orientation around machined titanium and zirconia dental implant necks: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(1):52-8.
- 145 - Thomsen P, Ericson LE. Light and transmission electron microscopy used to study the tissue morphology close to

implants. *Biomaterials*. 1985;6(6):421-4.

146 - Tomasi C, Tessarolo F, Caola I, Wennström J, Nollo G, Berglundh T. Morphogenesis of peri-implant mucosa revisited: an experimental study in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(9):997-1003.

147 - Touati B, Rompen E, Van Dooren E. A new concept for optimizing soft tissue integration. *Pract Proced Aesthet Dent* 2005;17(10):711-5.

148 - van Brakel R, Meijer GJ, Verhoeven JW, Jansen J, de Putter C, Cune MS. Soft tissue response to zirconia and titanium implant abutments: an in vivo within-subject comparison. *J Clin Periodontol*. 2012;39(10):995-1001.

149 - Vignoletti F, de Sanctis M, Berglundh T, Abrahamsson I, Sanz M. Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. III: soft tissue findings. *J Clin Periodontol*. 2009;36(12):1059-66.

150 - Vignoletti F, Abrahamsson I. Quality of reporting of experimental research in implant dentistry. Critical aspects in design, outcome assessment and model validation. *J Clin Periodontol*. 2012;39 Suppl 12:S6-27.

151 - Weber HP, Buser D, Donath K, Fiorellini JP, Doppalapudi V, Paquette DW, Williams RC. Comparison of healed tissues adjacent to submerged and non-submerged unloaded titanium dental implants. A histometric study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7(1):11-9.

152 - Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. The mucosal barrier at implant abutments of different materials. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(7):635-41.

153 - Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. Subcrestal placement of two-part implants. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(3):226-31.

154 - Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C, Danelli S. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Clin Oral Implants Res*. 1998;9(1):11-9.

155 - Wennerberg A, Sennerby L, Kultje C, Lekholm U. Some soft tissue characteristics at implant abutments with different surface topography. A study in humans. *J Clin Periodontol*. 2003;30(1):88-94.

156 - Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20 Suppl 4:S172-84.

157 - Weng D, Nagata MJ, Bell M, Bosco AF, de Melo LG, Richter EJ. Influence of microgap location and configuration on the periimplant bone morphology in submerged implants. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(11):1141-7.

158 - Weng D, Nagata MJ, Bell M, de Melo LG, Bosco AF. Influence of microgap location and configuration on peri-implant bone morphology in nonsubmerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(3):540-7.

159 - Weng D, Nagata MJ, Leite CM, de Melo LG, Bosco AF. Influence of microgap location and configuration on radiographic bone loss in nonsubmerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Prosthodont*. 2011;24(5):445-52.

160 - Wöhrle PS. Nobel Perfect esthetic scalloped implant: rationale for a new design. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2003;5 Suppl 1:S64-73.

161 - Yamano S, Al-Sowaygh ZH, Gallucci GO, Wada K, Weber HP, Sukotjo C. Early peri-implant tissue reactions on different titanium surface topographies. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(8):815-9.

162 - You TM, Choi BH, Li J, Xuan F, Jeong SM, Jang SO. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: a comparison between flap and flapless procedures in the canine mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(1):66-70.

163 - Zipprich H, Weigl P, Lange B, Lauer HC. Micromovements at the implant-abutment interface: measurement, causes, and consequences. *Implantologie*. 2007;15(1):31-46.

164 - Zitzmann NU, Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue reactions to plaque formation at implant abutments with different surface topography. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2002;29(5):456-61.

165 - Zurh O, Hürzeler M. Fondamentaux de l'anatomie parodontale et de la biologie structurelle. Dans Zurh O, Hürzeler M. Chirurgie plastique et esthétique en parodontologie et implantologie : une approche microchirurgicale. Paris : Quintessence International ; 2013, p.3-35.